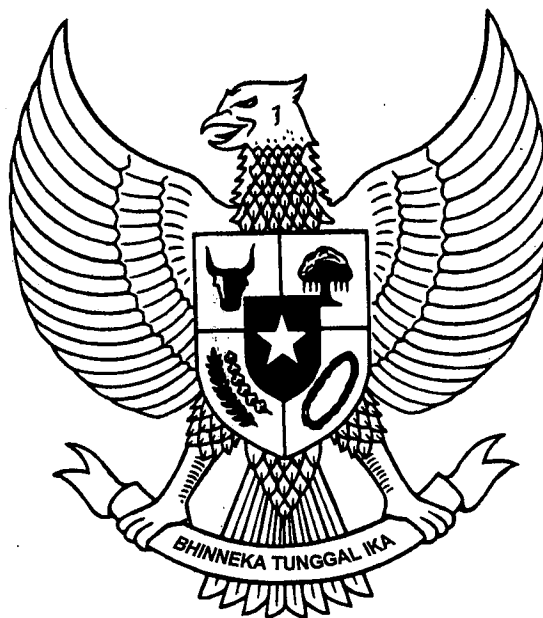


615.1  
Ind  
f



# **FARMAKOPE INDONESIA**

**EDISI V**

**2014**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA**

**615.1**  
**Ind**  
**f**

**Katalog Dalam Terbitan. Kementerian Kesehatan RI**

Indonesia Kementerian Kesehatan RI. Direktorat  
Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan  
**Farmakope Indonesia Edisi V 2013. —**  
Jakarta : Kementerian Kesehatan RI. 2013

ISBN 978-602-235-463-5

1. Judul I. PHARMACOPOEIAS  
II. FORMULARIES

**BUKU I DAN BUKU II MERUPAKAN SATU KESATUAN**

## NATRIUM AMINOSALISILAT Sodium Aminosalisilate

*Mononatrium-4-anlinosalisilat dihidrat*

[6018-19-5]

$C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$

Anhidrat [133-10-8]

BM 211,15

BM 175,12

Natrium Aminosalisilat mengandung tidak kurang dari 98% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_7H_6NNaO_3$ , dihitung terhadap zat anhidrat. [Catatan Gunakan larutan natrium aminosalisilat dalam waktu 24 jam setelah pembuatan. Jangan digunakan jika warna larutan lebih gelap dari larutan segar.]

**Pemerian** Serbuk hablur, putih hingga krem; praktis tidak berbau; rasa manis dan asin. Bentuk larutan terurai secara perlahan dan warna menjadi lebih gelap.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; sangat sukar larut dalam eter dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Asam aminosalisilat BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 50° selama 1 jam sebelum digunakan. Simpan di dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada suhu tidak lebih dari 30°. *m-Aminofenol BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin.

### Identifikasi

A. Larutkan 250 mg zat dalam 3 ml *natrium hidroksida 1 N* dalam labu tentukur 500-ml dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 250-ml yang berisi 12,5 ml *dapar fosfat pH 7*, encerkan dengan air sampai tanda. Ukur serapan menggunakan larutan dapar fosfat sebagai blangko; serapan maksimum pada panjang gelombang  $265 \pm 2$  nm dan  $299 \pm 2$  nm; perbandingan serapan  $A_{265}/A_{299}$  antara 1,50 dan 1,56.

B. Masukkan lebih kurang 1 g zat ke dalam labu alas bulat kecil, tambahkan 10 ml *anhidrida asetat P*. Panaskan labu di atas tangas uap selama 30 menit, tambahkan 40 ml air, campur, saring, dinginkan dan biarkan hingga derivat diasetil menghablur. Kumpulkan endapan pada penyaring, cuci dengan air dan keringkan pada suhu 105° selama 1 jam; derivat diasetil yang diperoleh melebur antara 191° dan 197°.

C. Larutkan 50 mg zat dalam 5 ml air, tambahkan 1 ml *asam klorida 3 N*, jika perlu saring. Pada filtrat tambahkan 1 tetes *besi (III) klorida LP*; terjadi warna ungu.

D. Larutan menunjukkan reaksi *Natrium* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Kejernihan dan warna larutan** Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air; terjadi larutan jernih yang berwarna tidak lebih tua dari warna kuning pucat. Larutkan 1 g zat dalam

campuran segar 5 ml *asam nitrat P* dan 45 ml air; terjadi larutan jernih yang hampir tidak berwarna.

**pH <1071>** Antara 6,5 dan 8,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 50).

**Air <1031> Metode I** Antara 16,0% dan 18,0%.

**Klorida <361>** Tidak lebih dari 0,042%. Larutkan 500 mg zat dalam campuran 5 ml *asam nitrat P* dan 15 ml air; larutan tidak lebih keruh dari 0,30 ml *asam klorida 0,020 N*.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 30 bpj.

**m-Aminofenol** Tidak lebih dari 0,25%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Asam Aminosalisilat*.

*Larutan baku internal, Larutan baku, dan Sistem Kromatografi* Lakukan seperti tertera pada uji *m-aminofenol* dalam *Asam Aminosalisilat*.

*Larutan uji* Gunakan *Larutan uji* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif sulfanilamida dan *m-aminofenol* masing-masing adalah lebih kurang 0,66 dan 1,0. Hitung persentase *m-aminofenol*, dalam zat dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *m-Aminofenol BPFi* dalam  $\mu$ g per ml *Larutan baku*; *W* adalah jumlah natrium aminosalisilat dalam mg yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak *m-aminofenol* terhadap sulfanilamida dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Hidrogen sulfida, belerang dioksida dan amil alkohol** Larutkan lebih kurang 500 mg zat dalam 5 ml *natrium hidroksida 1 N*, tambahkan 6 ml *asam klorida 3 N* dan aduk kuat; tidak tercium bau hidrogen sulfida atau belerang dioksida dan hanya berbau lemah amil alkohol. Sepotong kertas saring yang dibasahi dengan *timbal(II) asetat LP* yang diletakkan di atas larutan; warna tidak hilang.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Asam Aminosalisilat*.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 69 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur aktinik rendah 100-ml, tambahkan 50 ml Fase gerak, goyang hingga larut. Tambahkan 10,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Prosedur Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Asam Aminosalisilat. Hitung jumlah dalam mg, natrium aminosalisilat,  $C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{175,12}{153,14} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar Asam Aminosalisilat BPFi dalam mg per ml Larutan baku; 175,12 dan 153,14 berturut-turut adalah bobot molekul natrium aminosalisilat anhidrat dan asam aminosalisilat;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak asam aminosalisilat terhadap asetaminofen dari Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, hindarkan dari panas berlebih.

#### TABLET NATRIUM AMINOSALISILAT Aminosalicylate Sodium Tablet

Tablet Natrium Aminosalisilat mengandung Natrium Aminosalisilat,  $C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Baku pembanding Asam aminosalisilat BPFi; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 50° selama 1 jam sebelum digunakan. Simpan di dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada suhu tidak lebih dari 30°. m-Aminofenol BPFi; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin.

Identifikasi Digesti sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 3 g natrium aminosalisilat dengan 40 ml air dan saring. Pada filtrat tambahkan 15 ml asam asetat 1 N, dan biarkan hingga terbentuk endapan. Kumpulkan endapan pada penyaring dan cuci dengan air, keringkan pada suhu 105° selama 30 menit, residu menunjukkan reaksi sebagai berikut:

A. Masukkan 1 g residu ke dalam labu alas bulat kecil dan tambahkan 10 ml anhidrida asetat P. Panaskan labu di atas tangas uap selama 30 menit, tambahkan 40 ml air, campur, saring, dinginkan dan biarkan hingga derivat diasetil menghablur. Kumpulkan endapan pada penyaring, cuci dengan air dan keringkan pada suhu 105° selama 1 jam: derivat diasetil yang diperoleh melebur antara 191° dan 197°.

B. Kocok 100 mg residu dengan 10 ml air dan saring. Pada 5 ml filtrat tambahkan 1 tetes besi(III) klorida LP: terjadi warna ungu.

#### Disolusi <1231>

Prosedur gabungan sampel

Media disolusi: 900 ml air

Alat tipe I: 100 rpm

Waktu: 45 menit

Prosedur Lakukan penetapan jumlah  $C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$  yang terlarut seperti tertera pada Penetapan kadar, jika perlu lakukan modifikasi.

Toleransi Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q), natrium aminosalisilat,  $C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

m-Aminofenol Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Lakukan seperti tertera pada Penetapan Kadar dalam Asam Aminosalisilat.

Larutan baku, Larutan baku internal, dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada uji m-Aminofenol dalam Asam Aminosalisilat.

Larutan uji Gunakan Larutan uji seperti tertera pada Penetapan kadar.

Prosedur Lakukan seperti tertera pada uji m-aminofenol dalam Asam Aminosalisilat. Hitung persentase m-aminofenol, dalam natrium aminosalisilat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar m-Aminofenol BPFi dalam µg per ml Larutan baku; W adalah jumlah dalam mg natrium aminosalisilat dalam serbuk tablet yang digunakan berdasarkan hasil Penetapan kadar;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak m-aminofenol terhadap sulfanilamida dari Larutan uji dan Larutan baku.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku, dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Asam Aminosalisilat.

Larutan uji Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 690 mg natrium aminosalisilat, masukkan ke dalam labu tentukur aktinik rendah 100-ml. Tambahkan 50 ml Fase gerak dan kocok selama lebih kurang 5 menit. Encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Saring dan pipet 10 ml filtrat ke dalam labu tentukur aktinik rendah 100-ml yang berisi 10,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Prosedur Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Asam Aminosalisilat. Hitung jumlah dalam

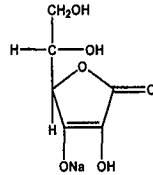
mg, natrium aminosalisilat,  $C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{211,15}{153,14} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar *Asam Aminosalisilat BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; 211,5 dan 153,14 berturut-turut adalah bobot molekul natrium aminosalisilat dihidrat dan asam aminosalisilat;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak asam aminosalisilat terhadap asetaminofen dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, hindarkan dari panas berlebih.

### NATRIUM ASKORBAT Sodium Ascorbate



*Garam Natrium L-askorbat* [134-03-2]  
 $C_7H_6NaO_6$

BM 198,11

Natrium Askorbat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_7H_6NaO_6$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur, putih atau kuning sangat pucat; tidak berbau atau praktis tidak berbau; Mantap di udara. Jika dibiarkan terpapar cahaya, berangsur-angsur menjadi gelap.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sangat sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Natrium Askorbat BPF1*.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Natrium Askorbat BPF1*.

B. Tambahkan 1 ml *asam klorida 0,1 N* ke dalam 4 ml larutan (1 dalam 50); larutan mereduksi secara perlahan-lahan *tembaga(II) tartrat alkali LP* pada suhu ruang, tetapi reduksi sangat cepat pada pemanasan.

C. Larutan (1 dalam 50) menunjukkan reaksi *Natrium* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +103° dan +108°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan

menggunakan larutan (1 dalam 10) dalam *air bebas karbon dioksida P*, ukur segera setelah larutan disiapkan.

**pH** <1071> Antara 7,0 dan 8,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10).

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,25%; lakukan pengeringan dalam tabung pengering hampa udara yang sesuai, menggunakan *fosfor pentoksida P* sebagai pengering, pada suhu 60° selama 4 jam.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode I* Memenuhi syarat.

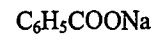
*Larutan baku* dan *Larutan uji* Buat *Larutan uji* dengan kadar 20 mg per ml dan *Larutan baku* dengan kadar dua kali kadar *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, larutkan dalam campuran 100 ml *air bebas karbon dioksida P* dan 25 ml *asam sulfat 2 N*. Titrasi segera dengan *iodum 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir.

Tiap ml *iodum 0,1 N*  
setara dengan 9,905 mg  $C_7H_6NaO_6$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### NATRIUM BENZOAT Sodium Benzoate



*Natrium benzoat* [532-32-1]  
 $C_7H_5NaO_2$

BM 144,11

Natrium Benzoat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_7H_5NaO_2$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Granul atau serbuk hablur, putih; tidak berbau atau praktis tidak berbau; stabil di udara.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol dan lebih mudah larut dalam etanol 90%.

**Identifikasi** Menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B dan *Benzoat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Kebasaaan** Larutkan 2 g dalam 20 ml air panas, tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP*: bila terjadi warna merah muda, warna hilang pada penambahan 0,20 ml *asam sulfat 0,10 N*.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,5%.

**Arsen <321>Metode II** Tidak lebih dari 3 bpj.

**Logam berat <371>** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 4,0 g dalam 40 ml air, tambahkan tetes demi tetes 10 ml asam klorida 3 N sambil diaduk kuat-kuat, saring, gunakan 25 ml filtrat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 600 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml. Tambahkan 100 ml asam asetat glasial P, aduk hingga larut sempurna, tambahkan 2 tetes kristal violet LP, titrasikan dengan asam perklorat 0,1 N LV hingga warna hijau. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 14,41 mg  $C_7H_5NaO_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**NATRIUM BIKARBONAT**  
**Natrium Subkarbonat**  
**Sodium Bicarbonate**

*Mononatrium karbonat* [144-55-8]  
 $NaHCO_3$

BM 84,01

Natrium Bikarbonat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $NaHCO_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih. Stabil di udara kering, tetapi dalam udara lembab secara perlahan-lahan terurai. Larutan segar dalam air dingin tanpa dikocok, bersifat basa terhadap lakmus. Kebasaan bertambah bila larutan dibiarkan, digoyang kuat atau dipanaskan.

**Kelarutan** Larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

**Identifikasi** Larutannya menunjukkan reaksi Natrium cara A dan B dan reaksi Bikarbonat seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,25%; lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 4 jam, menggunakan lebih kurang 4 g yang ditimbang saksama.

**Zat tidak larut** Larutkan 1 g zat dalam 20 ml air: melarut sempurna dan jernih.

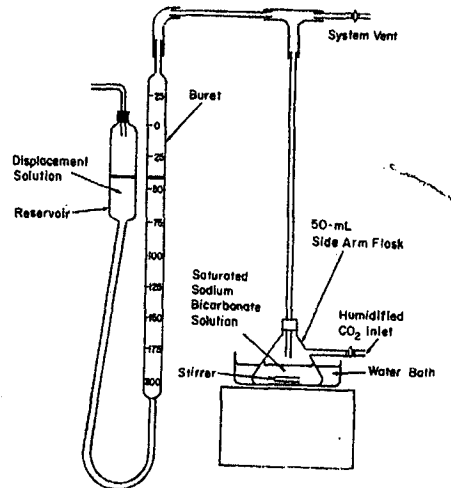
**Karbonat** (Bila pada penandaan dimaksudkan untuk digunakan dalam hemodialisis) Tidak lebih dari 0,23%.

**Alat** Alat (lihat gambar) terdiri dari labu 50 ml berlempang samping yang dihubungkan dengan sumber karbon dioksida yang dilembabkan dengan mengalirkan melalui larutan jenuh natrium bikarbonat P dan labu dihubungkan dengan sistem ventilasi dan buret penyetingkat dan pencadangan dengan pipa T.

*Pereaksi*

**Larutan jenuh natrium bikarbonat** Campur lebih kurang 20 g natrium bikarbonat P dan 100 ml air, biarkan kristal yang tidak larut mengendap. Gunakan beningan yang jernih.

**Larutan pengganti** Larutkan 100 g natrium klorida P dalam 350 ml air, tambahkan lebih kurang 1 g natrium bikarbonat P dan 1 ml jingga metil LP. Setelah natrium bikarbonat larut, tambahkan asam sulfat 6 N sampai warna larutan menjadi merah muda. Gunakan larutan ini untuk mengisi penampungan pada alat.



Carbonate Apparatus

**Prosedur** Tambahkan 25 ml Larutan jenuh natrium bikarbonat dalam labu 50 ke ml, bilas sistem dengan mengalirkan karbon dioksida P lembab melalui lengan samping labu. Tutup kran masuk karbon dioksida dan sistem ventilasi, aduk Larutan jenuh natrium bikarbonat sampai tidak ada lagi penyerapan karbon dioksida yang dapat dilihat dari pembacaan buret. Pertahankan tekanan udara dalam alat dengan mengatur Larutan pengganti sama tinggi pada penampung dan pada buret, berdasarkan pembacaan buret. Buka sistem ventilasi dan alirkan lagi karbon dioksida P lembab melalui lengan samping labu. Tutup kran masuk karbon dioksida P dan sistem ventilasi, aduk kuat-kuat Larutan jenuh natrium bikarbonat sampai tidak ada lagi penyerapan karbon dioksida. Ulangi prosedur penyerapan karbon dioksida mulai dengan "Buka sistem ventilasi" sampai perubahan pembacaan buret lebih dari 0,2 ml. Hentikan pengadukan, alirkan lagi karbon dioksida lembab melalui lengan samping labu, angkat segera tutup labu dan cepat-cepat masukkan lebih kurang 10 g zat uji yang telah ditimbang saksama ke dalam labu. Tutup kembali labu, lanjutkan pengaliran karbon dioksida lembab selama lebih kurang 30 detik, tutup kran masuk karbon dioksida dan sistem ventilasi. Aduk kuat-kuat larutan dalam labu sampai penyerapan karbon dioksida selesai, catat volume yang diserap dari pembacaan buret. Normalkan kembali tekanan udara dalam alat dengan membuat sama tinggi permukaan Larutan pengganti dalam penampung dan dalam buret, hentikan pengadukan. Buka sistem ventilasi dan alirkan karbon dioksida P lembab melalui sistem. Tutup kran

karbon dioksida dan sistem ventilasi, aduk kuat-kuat larutan dalam labu sampai penyerapan karbon dioksida selesai. Tentukan jumlah volume,  $V$ , dalam ml, karbon dioksida yang diserap setelah penambahan zat uji ke dalam labu. Hitung persentase karbonat dalam zat uji dengan rumus:

$$\left( \frac{273 V (6001 P)}{[22400 (273 + T)(760 W)]} \right)$$

$P$  adalah tekanan udara ruangan dalam mmHg;  $T$  adalah suhu ruang;  $W$  adalah jumlah zat uji yang digunakan dalam g. [Catatan Pertahankan suhu tetap selama pengukuran volume karbon dioksida yang diserap.]

**Karbonat normal** Larutkan tanpa digoyangkan kuat 1,0 g zat dalam 20 ml air pada suhu tidak lebih dari 5°, tambahkan 2,0 ml *asam klorida 0,10 N* dan 2 tetes *fenolftalein LP*: larutan tidak segera berwarna merah muda lemah.

**Klorida <361>** Tidak lebih dari 0,015%; lakukan penetapan menggunakan 350 mg bandingkan kekeruhan dengan 1,48 ml *asam klorida 0,0010 N*.

**Sulfat** Tidak lebih dari 0,015%; lakukan penetapan menggunakan 1,0 g zat bandingkan kekeruhan dengan 0,15 ml *asam sulfat 0,020 N*.

**Amonia** Panaskan lebih kurang 1 g zat dalam tabung reaksi: tidak terjadi bau amoniak.

**Aluminium** (Bila pada penandaan dimaksudkan untuk digunakan dalam hemodialisis) Tidak lebih dari 2 bpj. [Catatan Larutan baku dan Larutan uji bila perlu dimodifikasi, untuk mendapatkan larutan dengan kadar yang sesuai hingga hubungan antara kadar dan serapan merupakan kurva linier.]

*Pengencer asam nitrat* Encerkan 40 ml *asam nitrat P* dengan air hingga 1000 ml.

*Larutan baku* Masukkan 2,0 g *aluminium P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 50 ml *asam klorida 6 N*, goyang agar aluminium dan asam kontak sempurna, biarkan reaksi berjalan sampai aluminium terlarut sempurna. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer asam nitrat* sampai tanda. Pipet 1 ml; 2 ml dan 4 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml yang berbeda, encerkan masing-masing dengan *Pengencer asam nitrat* sampai tanda. larutan ini masing-masing mengandung 0,01 µg; 0,02 µg dan 0,04 µg aluminium per ml.

*Larutan uji* Masukkan 1,0 g zat ke dalam labu tentukur plastik 100-ml, tambahkan hati-hati 4 ml *asam nitrat P*. Sonikasi selama 30 menit, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada garis emisi aluminium pada 309,3 nm dengan

spektrofotometer serapan atom yang sesuai, yang dilengkapi dengan lampu tabung katode aluminium dan pemanas listrik tanpa api, menggunakan *Pengencer asam nitrat* sebagai blangko. Gambarkan titik hubungan serapan *Larutan baku* terhadap kadar aluminium dalam µg per ml, tarik garis lurus melalui ketiga titik tersebut. Dari kurva yang didapat, tentukan jumlah dalam µg Al per ml *Larutan uji*. Hitung jumlah aluminium dalam bpj, dalam zat uji yang digunakan dengan mengalikan harga yang diperoleh dengan 100.

**Arsen <321> Metode I** Tidak lebih dari 2 bpj; lakukan penetapan menggunakan larutan 1,5 g zat dalam 20 ml *asam sulfat 7 N* dan tambahkan 35 ml air.

**Kalsium dan Magnesium** (Bila pada penandaan dimasukkan untuk penggunaan hemodialisis) Tidak lebih dari 0,01% kalsium dan tidak lebih dari 0,004% magnesium. [Catatan Larutan baku dan Larutan uji bila perlu dimodifikasi, untuk mendapatkan larutan dengan kadar yang sesuai hingga hubungan antara kadar dan serapan merupakan kurva linier.]

*Larutan kalium klorida* Larutkan 10 g kalium klorida  $P$  dalam 1000 ml *asam klorida 0,36 N*.

*Larutan baku kalsium* Masukkan 249,7 mg kalsium karbonat  $P$  yang sebelumnya dikeringkan pada suhu 300° selama 3 jam dan didinginkan dalam desikator selama 2 jam, ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam 6 ml *asam klorida 6 N*, tambahkan 1 g kalium klorida  $P$ , encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml kedua, encerkan dengan *Larutan kalium klorida* sampai tanda. Larutan ini mengandung 100 µg kalsium per ml. Pipet 2 ml; 3 ml; 4 ml dan 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml yang berbeda, masing-masing berisi 6 ml *asam klorida 6 N*, encerkan dengan *Larutan kalium klorida* sampai tanda. *Larutan baku kalsium* ini berturut-turut mengandung 2,0 µg; 3,0 µg; 4,0 µg dan 5,0 µg kalsium per ml.

*Larutan baku magnesium* Masukkan 1,0 g magnesium  $P$  ke dalam gelas piala 250 ml yang berisi 20 ml air, tambahkan hati-hati 20 ml *asam klorida P*, bila perlu hangatkan sampai reaksi sempurna. Pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 1000-ml yang berisi 10 g kalium klorida  $P$ , encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 1 g kalium klorida  $P$ , encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml kedua, encerkan dengan larutan kalium klorida sampai tanda. Larutan ini mengandung 10,0 µg magnesium per ml. Pipet 2 ml; 3 ml; 4 ml dan 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml yang berbeda, masing-masing berisi 6 ml *asam klorida 6 N*, encerkan dengan *Larutan kalium klorida* sampai tanda. Larutan magnesium ini berturut-turut mengandung 0,2 µg; 0,3 µg; 0,4 µg dan 0,5 µg magnesium per ml.

*Larutan uji* Masukkan 3,0 g zat ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 6 ml *asam klorida 6 N* dan 1 g kalium klorida  $P$ , encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur untuk kalsium* Ukur serapan *Larutan baku kalsium* dan *Larutan uji* pada garis emisi kalsium pada 422,7 nm menggunakan spektrofotometer serapan atom yang sesuai, dilengkapi dengan lampu tabung katode kalsium dan nyala nitrous oksida dan asetilena, menggunakan *Larutan kalium klorida* sebagai blangko. Gambar titik hubungan serapan *Larutan baku kalsium* terhadap kadar kalsium dalam  $\mu\text{g}$  per ml, tarik garis lurus melalui keempat titik di atas. Dari kurva yang diperoleh, tentukan jumlah kalsium dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan uji*. Hitung persentase kalsium dalam zat uji yang digunakan dengan membagi harga yang diperoleh dengan 300.

*Prosedur untuk magnesium* Ukur serapan *Larutan baku magnesium* dan *Larutan uji* pada garis emisi magnesium pada 285,2 nm menggunakan spektrofotometer serapan atom yang sesuai, dilengkapi dengan lampu tabung katode magnesium dan nyala asetilena-udara, menggunakan *Larutan kalium klorida* sebagai blangko. Gambar titik hubungan serapan *Larutan baku magnesium* terhadap kadar magnesium dalam  $\mu\text{g}$  per ml, tarik garis lurus melalui keempat titik di atas. Dari kurva yang diperoleh, tentukan jumlah magnesium dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan uji*. Hitung persentase magnesium dalam zat uji yang digunakan dengan membagi harga yang diperoleh dengan 300.

**Tembaga** (Bila pada penandaan dimaksudkan untuk penggunaan hemodialisis) Tidak lebih dari 1 bpj. [Catatan *Larutan baku* dan *Larutan uji* bila perlu dimodifikasi, untuk mendapatkan larutan dengan kadar yang sesuai hingga hubungan antara kadar dan serapan merupakan kurva linier.]

*Pengencer asam nitrat* Encerkan 40 ml *asam nitrat P* dengan air hingga 1000 ml.

*Larutan baku* Masukkan 1,0 g *tembaga P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dalam 20 ml *asam nitrat P*, encerkan dengan *asam nitrat 0,2 N* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 1000-ml kedua, encerkan dengan *asam nitrat 0,2 N* sampai tanda. Larutan ini mengandung 10,0  $\mu\text{g}$  tembaga per ml. Simpan dalam botol polietilena.

*Larutan uji* Masukkan 5,0 g ke dalam labu tentukur plastik 100-ml, tambahkan hati-hati 4 ml *asam nitrat P*. Sonikasi selama 30 menit, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji plus* Pada 10,0 ml *Larutan uji* tambahkan 20  $\mu\text{l}$  *Larutan baku*, campur. Larutan ini mengandung 0,02  $\mu\text{g}$  tembaga yang ditambahkan per ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan uji plus* pada garis emisi tembaga pada 324,7 nm menggunakan spektrofotometer serapan atom yang sesuai, dilengkapi dengan lampu tabung katode tembaga dan pemanas listrik tanpa api, menggunakan *Pengencer asam nitrat* sebagai blangko. Gambar titik hubungan serapan *Larutan uji* dan *Larutan uji plus* terhadap kadar tembaga yang ditambahkan, dalam  $\mu\text{g}$  per ml, tarik garis yang menghubungkan kedua titik, dan ekstrapolasi garis sampai memotong aksis kadar. Dari titik potong tentukan jumlah tembaga, dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan uji*. Hitung

jumlah tembaga dalam zat uji yang digunakan, dalam bpj, dengan mengalikan harga yang diperoleh dengan 20.

**Besi <331>** (Bila pada penandaan dimaksudkan untuk penggunaan hemodialisis) Tidak lebih dari 5 bpj. Masukkan 2,0 g zat dalam gelas piala, netralkan dengan *asam klorida P*, catat volume asam yang digunakan. Pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 25-ml dengan penambahan air (*Larutan uji*). Buat *Larutan baku* dengan memindahkan 1,0 ml *Larutan baku besi* ke dalam labu tentukur 25-ml dan tambahkan volume sama *asam klorida P* yang digunakan pada pembuatan *Larutan uji*. Buat Blangko dengan menambahkan volume sama *asam klorida P* ke dalam labu tentukur 25-ml ketiga. Ke dalam masing-masing labu di atas tambahkan 50 mg hablur amonium peroksidisulfat dan 2 ml larutan amonium tiosianat *P*, encerkan dengan air sampai tanda. Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 480 nm menggunakan spektrofotometer yang sesuai, serapan *Larutan uji* tidak lebih besar dari pada serapan *Larutan baku*.

**Logam berat <371>** Tidak lebih dari 5 bpj; lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat sebagai berikut: Campur 4,0 g zat dengan 5 ml air 19 ml *asam klorida 3 N*, panaskan sampai mendidih, pertahankan suhu selama 1 menit. Tambahkan 1 tetes *fenolftalein LP*, kemudian amonium hidroksida 6 N secukupnya tetes demi tetes sampai larutan berwarna merah muda lemah. Dinginkan, encerkan dengan air sampai 25 ml.

**Senyawa organik** (Bila pada penandaan dimaksudkan untuk penggunaan hemodialisis) Tidak lebih dari 0,01%.

*Larutan perak sulfat* Larutkan 22 g *perak sulfat P* dalam 2000 ml *asam sulfat P*.

*Larutan indikator* Larutkan 1,485 g 1,10-fenantrolina *P* dan 695 mg *besi(II) sulfat P* dalam air sampai 100 ml.

*Larutan baku* Masukkan 850,3 mg *kalium bifthalat P*, yang sebelumnya dihancurkan perlahan-lahan dan dikeringkan pada suhu 120° selama 2 jam, ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 6 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan ini mengandung setara dengan 0,06 mg senyawa organik per ml. Pipet 40 ml larutan ini ke dalam labu refluks 500 ml.

*Larutan uji* timbang saksama lebih kurang 20 g zat, masukkan ke dalam labu refluks 500 ml, tambahkan 20 ml air, goyangkan. Tambahkan hati-hati 20 ml *asam sulfat P*, goyangkan. [Perhatian Lakukan di dalam lemari asam.]

*Blangko* Tambahkan 40 ml air ke dalam labu refluks 500 ml.

*Prosedur* Lakukan terhadap masing-masing *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Blangko* sebagai berikut: Tambahkan 1 g *raksa(II) sulfat P* dan lebih kurang 5 butir batu didih kaca. Dinginkan labu dalam tangas es, tambahkan 5 ml *Larutan perak sulfat*. Sambil digoyang perlahan-lahan dalam tangas es, tambahkan 25,0 ml *kalium dikromat 0,025 N LV* dan perlahan-lahan 70 ml



*Larutan perak sulfat.* Pasang kondensor dengan aliran air dingin, kemudian refluks selama 2 jam. Biarkan isi labu mendingin selama 10 menit, cuci pendingin dengan 50 ml air, kumpulkan air cucian dalam labu. Tambahkan air secukupnya ke dalam labu sampai volume lebih kurang 350 ml. Tambahkan 3 tetes *Larutan indikator*, titrasi pada suhu ruang dengan *besi(II) amonium sulfat 0,07 N LV* sampai warna larutan berubah dari biru kehijauan menjadi coklat kemerahan. Hitung jumlah kesetaraan organik dalam mg, dalam larutan baku dengan rumus:

$$8N(V_B - V_S)$$

*N* adalah normalitas *besi(II) amonium sulfat LV*; *V<sub>B</sub>* dan *V<sub>S</sub>* berturut-turut adalah volume dalam ml *besi(II) amonium sulfat 0,07 N LV* yang diperlukan pada titrasi *Blangko* dan *Larutan baku*. Dalam sistem yang baik diperoleh harga antara 2,328 dan 2,424 mg. Hitung jumlah kesetaraan senyawa organik dalam mg, dalam zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$8N(V_B - V_u)$$

*V<sub>u</sub>* adalah volume dalam ml *besi(II) ammonium sulfat 0,07 N LV* yang digunakan pada *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 3 g zat, campur dengan 100 ml air, tambahkan *merah metil LP*, titrasi dengan *asam klorida 1 N LV*. Tambahkan asam perlahan-lahan sambil terus diaduk sampai larutan berwarna merah muda lemah. Panaskan larutan hingga mendidih, dinginkan dan lanjutkan titrasi sampai warna larutan merah muda lemah tidak hilang setelah dididihkan.

*Tiap ml asam klorida 1 N  
setara dengan 84,01 mg NaHCO<sub>3</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**Penandaan** Bila dimaksudkan untuk penggunaan haemodialisis, pada penandaan harus dicantumkan.

## INJEKSI NATRIUM SUBKARBONAT

### Injeksi Natrium Bikarbonat Sodium Bicarbonate Injection

Injeksi Natrium Bikarbonat adalah larutan steril Natrium Bikarbonat dalam *Air untuk Injeksi*. pH larutan dapat disesuaikan dengan menambahkan *karbon dioksida P*. Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% NaHCO<sub>3</sub>, dari jumlah yang tertera pada etiket. [Catatan Injeksi ini tidak boleh digunakan bila terdapat endapan.]

**Baku pembanding** *Endotoksin BPF1*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk

*menghindari kontaminasi*]. Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* dan reaksi *Bikarbonat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 5,0 unit Endotoksin FI per mEq.

**pH <1071>** Antara 7,0 dan 8,5.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Ukur saksama sejumlah volume setara dengan lebih kurang 3 g natrium bikarbonat, tambahkan *merah metil LP*, titrasi dengan *asam klorida 1 N LV*. Tambahkan asam perlahan-lahan sambil tetap diaduk hingga larutan berwarna merah muda lemah. Panaskan larutan hingga mendidih, dinginkan dan lanjutkan titrasi hingga warna larutan merah muda tidak hilang setelah dididihkan.

*Tiap ml asam klorida 1 N  
setara dengan 84,01 mg NaHCO<sub>3</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal dari kaca Tipe I.

**Penandaan** pada etiket dinyatakan kadar total dalam mOsmol per liter, bila volume lebih kecil dari 100 ml atau pada etiket dinyatakan tidak untuk disuntikkan langsung tetapi harus diencerkan sebelum digunakan, pada etiket dapat dinyatakan kadar total osmolar dalam mOsmol per ml.

## TABLET NATRIUM SUBKARBONAT

### Tablet Natrium Bikarbonat Sodium Bicarbonate Tablet

Tablet Natrium Bikarbonat mengandung natrium bikarbonat, NaHCO<sub>3</sub>, tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi** Larutan dari sejumlah tablet menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* dan reaksi *Bikarbonat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Waktu hancur <1251>** Tidak lebih dari 30 menit, lakukan penetapan menggunakan *cairan asam lambung buatan LP* sebagai pengganti air.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk yang setara dengan lebih kurang 2 g natrium bikarbonat, larutkan dalam 100 ml air, tambahkan merah metil LP, titrasi dengan asam klorida 1 N LV. Tambahkan asam perlahan-lahan sambil tetap diaduk hingga larutan berwarna merah muda lemah. Panaskan larutan hingga mendidih, dinginkan dan lanjutkan titrasi hingga warna larutan merah muda tidak hilang setelah dididihkan.

Tiap ml asam klorida 1 N  
setara dengan 84,01 mg NaHCO<sub>3</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## NATRIUM FLUORIDA Sodium Fluoride

*Natrium fluorida* [7681-49-4]  
NaF

BM 41,99

Natrium Fluorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% NaF, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan

**Pemerian** Serbuk; putih; tidak berbau.

**Kelarutan** Larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Natrium Fluorida BPFI*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Masukkan 1 g zat dalam krus platina, lakukan dalam lemari asam dengan ventilasi yang baik, tambahkan 15 ml asam sulfat P, dan tutup krus dengan kaca yang mengkilap dan bening. Panaskan di atas tangas uap selama 1 jam, angkat tutup kaca, bilas dengan air, dan keringkan: permukaan kaca tergores.

B. Larutan zat (1 dalam 25) menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Keasaman atau kebasaaan** Larutkan 2,0 g zat dengan 40 ml air dalam cawan platina, tambahkan 10 ml larutan jenuh kalium nitrat P, dinginkan larutan sampai 0°, dan tambahkan 3 tetes fenolftalein LP. Bila tidak timbul warna, dengan penambahan tidak lebih dari 2,0 ml natrium hidroksida 0,10 N akan terjadi warna merah muda yang bertahan selama 15 detik. Bila dengan penambahan fenolftalein LP terjadi warna merah muda: dengan penambahan tidak lebih dari 0,50 ml asam sulfat 0,10 N berubah menjadi tidak berwarna, larutan netral disimpan untuk uji *Fluosilikat*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 150° selama 4 jam.

**Fluosilikat** Setelah larutan uji netral dari *Keasaman atau kebasaaan*, panaskan sampai mendidih, dan titrasi dalam keadaan panas dengan natrium hidroksida 0,10 N LV, hingga diperoleh warna merah muda yang stabil: dibutuhkan tidak lebih dari 1,5 ml natrium hidroksida 0,10 N LV.

**Klorida** Tidak lebih dari 0,012%. Lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 300 mg zat dalam 20 ml air, dan tambahkan 200 mg asam borat P, 1 ml asam nitrat P dan 1 ml perak nitrat 0,1 N: terjadi kekeruhan yang tidak lebih dari kekeruhan yang ditimbulkan oleh blanko yang telah ditambahkan 1,0 asam klorida 0,0010 N.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 30 bpj. Lakukan penetapan sebagai berikut: Masukkan 1 g zat ke dalam cawan atau krus platina, lakukan dalam lemari asam, tambahkan 1 ml air dan 3 ml asam sulfat P, panaskan pada suhu rendah hingga asam sulfat habis keluar. Larutkan residu dalam 20 ml air, netralkan terhadap fenolftalein LP dengan amonium hidroksida P, tambahkan 1 ml asam asetat glasial P, encerkan dengan air hingga 45 ml, saring dan gunakan 30 ml filtrat untuk pengujian.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode I* Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** [*Catatan Simpan semua larutan dalam wadah plastik kecuali Larutan dapar*].

*Larutan dapar* Larutkan 57 ml asam asetat glasial P, 58 g natrium klorida P dan 4 g asam (1,2- sikloheksil enadinitrilo) tetra asetat P dalam 500 ml air, atur hingga pH 5,25±0,25 dengan penambahan natrium hidroksida 5 N, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Natrium Fluorida BPFI*, larutkan secara kuantitatif dengan air hingga diperoleh kadar 420 µg per ml. Tiap ml larutan ini (*Larutan baku A*) mengandung ion fluorida 190 µg per ml (10<sup>-2</sup> M). Pipet 25 ml *Larutan baku A* ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan air sampai tanda (*Larutan baku B*), mengandung ion fluorida 19 µg per ml (10<sup>-3</sup> M). Masukkan 25,0 ml *Larutan baku B* ke dalam labu tentukur 250-ml. Encerkan dengan air sampai tanda (*Larutan baku C*), mengandung ion fluorida 1,9 µg per ml (10<sup>-4</sup> M).

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml. Tambahkan 50 ml air, kocok selama 5 menit, encerkan dengan air sampai tanda. Masukkan 10,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Pipet masing-masing 20 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam gelas piala plastik terpisah yang berisi batang pengaduk berlapis plastik. Pada masing-masing gelas piala tambahkan 20,0 ml *Larutan dapar*. Secara berurutan ukur perbedaan tegangan, dalam mV, masing-masing *Larutan baku* dan *Larutan uji* menggunakan pH meter dengan kemampuan reproduibilitas minimum ±0,2 mV yang dilengkapi dengan elektroda indikator spesifik ion fluorida dan

elektroda pembanding kalomel [Catatan Saat melakukan pengukuran, celupkan elektroda ke dalam larutan, kocok dengan pengaduk magnetik tersalut hingga keseimbangan tercapai (1 - 2 menit), rekam perbedaan tegangan. Bilas dan keringkan elektroda diantara pengukuran. Lakukan hati-hati untuk menghindari kerusakan hablur dari elektroda ion spesifik.] Buat kurva antara logaritma kadar ion fluorida dalam µg per ml Larutan baku terhadap perbedaan tegangan, dalam mV. Dari perbedaan tegangan Larutan uji yang diukur dari garis respons baku, tetapkan kadar ion fluorida, C, dalam µg per ml Larutan uji. Hitung jumlah dalam mg, natrium fluorida, NaF, dalam zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$1,25C \left( \frac{41,99}{18,998} \right)$$

C adalah kadar fluorida yang ditetapkan dalam µg per ml Larutan uji; 41,99 adalah bobot molekul natrium fluorida; 18,998 adalah bobot atom fluorin.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### INJEKSI NATRIUM FOSFAT <sup>32</sup>P Sodium Phosphate <sup>32</sup>P Injections

Injeksi Natrium Fosfat <sup>32</sup>P adalah larutan steril natrium fosfat dibasa dan natrium fosfat monobasa (P) yang dibuat isotonis dengan penambahan natrium klorida. Fosfor-32 dibuat dengan cara penembakan belerang dengan neutron. Radioaktivitas <sup>32</sup>P tidak kurang 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari aktivitas yang tertera pada etiket pada saat kalibrasi. Tidak kurang dari 95,0% dari radioaktivitas berasal dari fosfor-32 dalam bentuk ion ortofosfat. Aktivitas jenis tidak kurang dari 11,1 MBq per mg ion ortofosfat.

**Pemerian** Larutan jernih dan tidak berwarna; memancarkan radiasi beta.

#### Identifikasi

A. Spektrum sinar beta menunjukkan energi maksimum 1,71 MeV yang sama seperti pada <sup>32</sup>P yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

B. Distribusi radioaktivitas pada kromatogram seperti tertera pada uji Kemurnian radiokimia merupakan identifikasi sediaan.

**pH**<1071> Antara 6,0 dan 8,0.

**Kemurnian radionuklida** Spektrum sinar beta atau kurva serapan sinar beta yang dibuat dengan alat yang sesuai, menunjukkan spektrum yang sama dengan <sup>32</sup>P yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan Kromatografi kertas seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan uji** Encerkan sejumlah volume injeksi dengan air hingga laju cacahan 10.000 sampai 20.000 cacahan per menit dalam 10 µl.

**Larutan baku** Larutan asam ortofosfat P dengan kadar fosfor 0,2%.

Prosedur Totolkan secara terpisah 10 µl Larutan uji dan Larutan baku pada kertas Whatman 541; 30 cm x 25 mm. Eluasi secara kromatografi menaik menggunakan fase gerak 75 ml isopropanol P-25 ml air-5 g asam triklorasetat P-0,3 ml amonium hidroklorida 10 M selama 16 jam, biarkan kering, semprot kertas dengan larutan asamperklorat P 5%, kemudian diikuti dengan larutan amonium molibdat P 1%, dan paparkan pada gas hidrogen sulfida. Terbentuk warna biru bercak asam fosfat. Tentukan bercak fosfor radioaktif dengan cara autoradiografi atau dengan pengukuran radioaktivitas sepanjang kromatogram. Tidak kurang dari 95,0% radioaktivitas total terdapat pada bercak asam ortofosfat.

**Fosfat total** Encerkan sejumlah volume injeksi dengan air secukupnya hingga diperoleh kadar radioaktivitas 370 kBq fosfor-32 per ml. Ke dalam 1 ml larutan, tambahkan dengan pengocokan 0,5 ml larutan amonium metavanadat P 0,25%, 0,5 ml larutan amonium molibdat P 10% dan 1 ml asam perklorat P, encerkan dengan air hingga 5 ml dan biarkan selama 30 menit. Warna yang terjadi tidak lebih intensif dari warna yang dihasilkan oleh 1 ml larutan yang mengandung ion ortofosfat 0,0033%, yang diperlakukan dengan cara yang sama dan pada waktu yang bersamaan.

**Syarat lain** Memenuhi syarat Uji Sterilitas <71>, kecuali bahwa injeksi dapat diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada hari akhir produksi.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq (µCi atau mCi) per ml Injeksi natrium fosfat menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>, dibandingkan dengan larutan baku fosfor-32, atau dengan pengukuran dalam alat pencacah yang telah dikalibrasi dengan larutan baku.

**Penandaan** Kecuali pernyataan seperti tertera pada Penandaan dalam Injeksi, pada penandaan juga tertera: (1) Saat dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah <sup>32</sup>P sebagai natrium fosfat dalam MBq (µCi atau mCi) per ml injeksi pada saat kalibrasi, (3) Tanggal kedaluarsa (4) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (5) Informasi bahwa dalam perhitungan dosis, lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (6) Waktu paro <sup>32</sup>P adalah 14,3 hari.

### NATRIUM HIDROKSIDA Sodium Hydroxide

Natrium Hidroksida [1310-73-2]  
NaOH

BM 40,00

Natrium Hidroksida mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 100,5% alkali total, dihitung sebagai NaOH, mengandung  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  tidak lebih dari 3,0%. [Perhatian Hati-hati dalam penanganan natrium hidroksida karena merusak jaringan dengan cepat.]

Pemerian Putih atau praktis putih, keras, rapuh dan menunjukkan pecahan hablur. Jika terpapar di udara, akan cepat menyerap karbon dioksida dan lembab. Massa melebur, berbentuk pelet kecil, serpihan atau batang atau bentuk lain.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air dan dalam etanol.

**Identifikasi** Menunjukkan reaksi Natrium cara A dan B seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 25).

**Bahan tidak larut dan senyawa organik** Larutan (1 dalam 20) larut sempurna, jernih dan tidak berwarna sampai agak berwarna.

**Kalium** Asamkan 5 ml larutan (1 dalam 20) dengan asam asetat 6 N, tambahkan 5 tetes natrium kobalt nitrit LP; tidak terbentuk endapan.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 670 mg dalam campuran 5 ml air dan 7 ml asam klorida 3 N. Panaskan sampai mendidih, dinginkan dan encerkan dengan air hingga 25 ml.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 1,5 g, larutkan dalam lebih kurang 40 ml air bebaskarbon dioksida P. Dinginkan larutan sampai suhu ruang, tambahkan fenolftalein LP dan titrasi dengan asam sulfat 1 N LV. Pada saat terjadi warna merah muda catat volume asam yang dibutuhkan, tambahkan jingga metil LP dan lanjutkan titrasi hingga terjadi warna merah muda yang tetap.

Tiap ml asam sulfat 1 N  
setara dengan 40,00 mg alkali jumlah,  
dihitung sebagai NaOH

Tiap ml asam dalam titrasi dengan metil jingga setara  
dengan 106,0 mg  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## KAPSUL NATRIUM IODIDA $^{123}\text{I}$ Sodium Iodide $^{123}\text{I}$ Capsule

Kapsul Natrium Iodida  $^{123}\text{I}$  mengandung iodum radioaktif  $^{123}\text{I}$  yang diproses dalam bentuk natrium iodida yang diperoleh dari penembakan telurium 124 yang diperkaya dengan proton atau telurium 122 yang diperkaya dengan deutron atau dari peluruhan xenon 123 sedemikian

hingga bebas pengembun. Kapsul mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah  $^{123}\text{I}$  yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) pada waktu dan tanggal kalibrasi dilakukan. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 5% dari radioaktivitas jumlah. Kapsul dapat mengandung penstabil.

**Identifikasi radionuklida** Larutan atau suspensi 1 kapsul atau lebih dalam air, memenuhi uji Identifikasi radionuklida seperti tertera pada Larutan Natrium Iodida ( $^{123}\text{I}$ ).

**Kemurnian radionuklida** Memenuhi syarat Kemurnian radionuklida yang tertera pada Larutan Natrium Iodida ( $^{123}\text{I}$ ); lakukan penetapan menggunakan larutan atau suspensi 1 kapsul atau lebih dalam air.

**Kemurnian radiokimia** Memenuhi syarat uji Kemurnian radiokimia yang tertera pada Larutan Natrium Iodida ( $^{123}\text{I}$ ); lakukan penetapan menggunakan beningan yang diperoleh sebagai berikut: Gerus isi 1 kapsul dalam 3 ml air, tambahkan 3 ml metanol P dan sentrifus.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

Prosedur untuk keseragaman kandungan Ukur aktivitas masing-masing 20 kapsul menggunakan alat pencacah yang sesuai dengan kondisi geometri yang sama. Hitung nilai radioaktivitas rata-rata per kapsul. Syarat dipenuhi jika tidak kurang 19 dari 20 kapsul mempunyai nilai radioaktivitas antara 96,5% dan 103,5% dari radioaktivitas rata-rata.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada Penetapan radioaktivitas dalam Larutan Natrium Iodida ( $^{123}\text{I}$ ); lakukan penetapan menggunakan larutan atau suspensi yang diperoleh dengan menggerus isi 1 kapsul atau lebih dalam air hingga kadar tidak kurang 1 MBq ( $25 \mu\text{Ci}$ ) per ml.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik dan cukup terlindung.

**Penandaan** Pada penandaan tertera: (1) Nama kapsul, (2) Nama, alamat dan nomor batch pembuat, (3) Waktu dan tanggal kalibrasi, (4) Jumlah  $^{123}\text{I}$  sebagai iodida dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per kapsul pada saat kalibrasi, (5) Nama dan jumlah pengawet atau penstabil yang ditambahkan, (6) Pernyataan hanya digunakan secara oral, (7) Waktu dan tanggal kadaluarsa, (8) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (9) Informasi bahwa dalam perhitungan dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (10) Waktu paro  $^{123}\text{I}$  adalah 13,2 jam.

## LARUTAN NATRIUM IODIDA <sup>123</sup>I Sodium Iodide <sup>123</sup>I Solution

*Natrium iodida (Na<sup>123</sup>I)* [41927-88-2]

Larutan Natrium Iodida <sup>123</sup>I adalah larutan, untuk pemberian oral atau suntikan intravena, mengandung Iodium radioaktif <sup>123</sup>I yang diproses dalam bentuk natrium iodida, dihasilkan dari penembakan telurium 124 yang diperkaya dengan proton atau penembakan telurium 122 yang diperkaya dengan deuteron atau dari peluruhan xenon 123 sedemikian rupa hingga bebas pengemban. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah <sup>123</sup>I sebagai Iodida yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq (μCi atau mCi) per ml, ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 5% dari radioaktivitas jumlah. Larutan dapat mengandung bahan pengawet atau penstabil.

**Pemerian** Larutan jernih, tidak berwarna.

**Baku pembanding Endotoksin BPF1;** [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi]. Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada Radioaktivitas <1171>. Spektrum sinar gamma menunjukkan puncak energi utama pada 0,159 MeV yang sama seperti <sup>123</sup>I yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Kemurnian radionuklida** Tidak kurang dari 85,0% radionuklida jumlah sebagai <sup>123</sup>I. Lakukan penetapan kemurnian radionuklida dalam larutan menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi* dalam Radioaktivitas <1171>.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Totolkan sejumlah volume larutan yang mengandung *kaliun iodida P 0,1%, kaliun iodat P 0,2%* dan *natrium bikarbonat P 1,0%*, pada kertas kromatografi berukuran 25 mm x 300 mm dan biarkan kering. Totolkan pada titik yang sama, sejumlah volume sama dari Larutan Natrium Iodida <sup>123</sup>I yang diencerkan sedemikian hingga memberikan laju cacahan lebih kurang 20.000 cacahan per menit dan biarkan kering. Masukkan kertas dalam bejana kromatografi menaik dengan fase gerak *metanol P 70%* selama 4 jam. Keringkan kertas kromatografi di udara dan tetapkan distribusi radioaktivitas dengan menatah kromatogram menggunakan detektor radiasi terkolimasi: radioaktivitas pita iodida <sup>123</sup>I tidak kurang dari 95,0% dari radioaktivitas total dan harga *R<sub>f</sub>* pita iodida berada dalam batas lebih kurang 5% dari harga *R<sub>f</sub>* cuplikan natrium iodida yang ditetapkan dengan cara

yang sama. Identifikasi pita iodida dilakukan dengan penambahan pada pita yang diduga adalah pita iodida, 6 tetes larutan *hidrogen peroksida P* yang diasamkan (yang dibuat dengan penambahan 6 tetes *asam klorida 1 N* pada 10 ml *hidrogen peroksida P*), kemudian tambahkan beberapa tetes *kanji LP*: terjadinya warna biru menunjukkan adanya iodida.

**pH** <1071> Antara 7,5 dan 9,0.

**Endotoksin bakteri**<201> Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah dosis total maksimum yang dianjurkan, pada saat kadaluarsa.

**Syarat lain** Sediaan untuk suntikkan intravena memenuhi syarat *Injeksi*, kecuali bahwa injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada hari akhir produksi dan tidak harus memenuhi anjuran seperti yang tertera pada *Volume dalam wadah*.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq (μCi) per ml Larutan Natrium Iodida <sup>123</sup>I menggunakan alat pencacah yang sesuai, seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi* dalam Radioaktivitas <1171>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda yang tidak mengadsorpsi.

**Penandaan** Pada penandaan tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah <sup>123</sup>I sebagai iodida dinyatakan dalam MBq (μCi atau mCi) per ml pada saat kalibrasi, (3) Nama dan jumlah bahan pengawet penstabil yang ditambahkan, (4) Pernyataan untuk pemakaian oral atau injeksi intravena, (5) Tanggal dan waktu kadaluarsa, (6) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (7) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (8) Waktu paro <sup>123</sup>I adalah 13,2 jam.

## KAPSUL NATRIUM IODIDA <sup>131</sup>I Sodium Iodide <sup>131</sup>I Capsule

*Natrium Iodida (Na<sup>131</sup>I)* [7790-26-3]

Kapsul Natrium Iodida <sup>131</sup>I mengandung iodum radioaktif <sup>131</sup>I yang diproses dalam bentuk natrium iodida yang dihasilkan dari fisi uranium atau penembakan telurium dengan neutron sedemikian hingga bebas pengemban dan secara alamiah hanya mengandung sejumlah kecil Iodium <sup>127</sup>I.

Kapsul mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah <sup>131</sup>I sebagai Iodida yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq (μCi atau mCi) per ml, ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 5% dari radioaktivitas jumlah. Kapsul dapat mengandung bahan pengawet atau penstabil.

**Identifikasi radionuklida** Memenuhi uji *Identifikasi radionuklida* yang tertera pada *Larutan Natrium Iodida* <sup>131</sup>I. Lakukan penetapan menggunakan larutan atau suspensi 1 kapsul atau lebih dalam air.

**Kemurnian radiokimia** Memenuhi syarat uji *Kemurnian radiokimia* yang tertera pada *Larutan Natrium Iodida* <sup>131</sup>I; lakukan penetapan menggunakan beningan yang diperoleh sebagai berikut: Homogenkan 1 kapsul dalam 3 ml air, tambahkan 3 ml *metanol P* dan sentrifus.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

*Prosedur untuk keseragaman kandungan* Ukur radioaktivitas masing-masing 20 kapsul menggunakan alat pencacah yang sesuai dengan kondisi geometri yang sama. Hitung nilai radioaktivitas rata-rata per kapsul. Syarat dipenuhi, jika tidak kurang 19 dari 20 kapsul yang diuji mempunyai nilai radioaktivitas antara 96,5% dan 103,5% dari radioaktivitas rata-rata.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Penetapan radioaktivitas dalam Larutan Natrium Iodida* (<sup>131</sup>I); lakukan penetapan menggunakan larutan atau suspensi yang diperoleh dengan menggerus isi 1 kapsul atau lebih dalam air hingga kadar tidak kurang 1 MBq (25 µCi) per ml.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**Penandaan** Pada penandaan tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah <sup>131</sup>I sebagai Iodida yang dinyatakan dalam MBq (µCi atau mCi) per kapsul pada saat kalibrasi, (3) Pernyataan yang menunjukkan tujuan penggunaan, untuk diagnostik atau terapi, (4) Tanggal kadaluarsa, (5) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (6) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (7) Waktu paro <sup>131</sup>I adalah 8,08 hari.

## LARUTAN NATRIUM IODIDA <sup>131</sup>I Sodium Iodide <sup>131</sup>I Solution

*Natrium iodida (Na<sup>131</sup>I) [7790-26-3]*

Larutan Natrium Iodida <sup>131</sup>I adalah larutan yang dapat digunakan secara oral atau intravena, mengandung iodum radioaktif <sup>131</sup>I yang diproses dalam bentuk natrium iodida yang dihasilkan dari fisi uranium atau penembakan telurium dengan neutron sedemikian hingga bebas pengemban dan hanya mengandung sejumlah kecil Iodum <sup>127</sup>I alamiah.

Larutan Natrium Iodida <sup>131</sup>I mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah <sup>131</sup>I sebagai Iodida yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq (µCi atau mCi) per ml ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 5% dari radioaktivitas jumlah. Larutan dapat mengandung bahan pengawet atau penstabil.

**Pemerian Larutan jernih.** Larutan dan wadah kaca dapat menjadi gelap akibat pengaruh radiasi.

**Baku pembanding Endotoksin BPF1;** [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada *Radioaktivitas* <1171>. Spektrum gamma menunjukkan puncak energi utama pada 0,364 MeV yang sama seperti <sup>131</sup>I yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml larutan untuk sediaan yang digunakan secara intravena; V adalah dosis total maksimum yang dianjurkan pada saat kadaluarsa.

**pH** <1071> Antara 7,5 dan 9,0.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Totolkan sejumlah volume larutan yang mengandung kalium iodida P 0,1%, kalium iodat P 0,2% dan natrium bikarbonat P 1,0%, pada kertas kromatografi berukuran 25 mm x 300 mm dan biarkan kering. Totolkan pada titik yang sama, sejumlah volume yang sama larutan natrium Iodida <sup>131</sup>I yang telah diencerkan sedemikian hingga memberikan laju cacahan lebih kurang 20.000 cacahan per menit dan biarkan kering. Eluasi secara kromatografi menaik dengan *metanol P* 70% selama 4 jam. Keringkan kertas kromatografi di udara dan tetapkan distribusi radioaktivitas dengan menatah kromatogram menggunakan detektor radiasi terkolimasi. Radioaktivitas pita iodida <sup>131</sup>I tidak kurang dari 95% dari radioaktivitas total dan harga R<sub>f</sub> pita iodida berada pada batas lebih kurang 5% dari harga R<sub>f</sub> cuplikan natrium iodida yang ditetapkan dengan cara yang sama. Identifikasi terhadap pita iodida dilakukan dengan penambahan pada pita yang diduga adalah pita iodida, 6 tetes larutan *hidrogen peroksida P* yang diasamkan (yang dibuat dengan penambahan 6 tetes *asam klorida I N* pada 10 ml *hidrogen peroksida P*) kemudian tambahkan beberapa tetes *kanji LP*: terjadinya warna biru menunjukkan adanya iodida.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Injeksi*, kecuali injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada hari akhir produksi dan tidak harus memenuhi anjuran seperti tertera pada *Volume dalam wadah*.

**Penetapan radioaktifitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq (µCi) per ml larutan natrium iodida <sup>131</sup>I menggunakan alat pencacah yang sesuai, seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas* <1171>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda yang tidak mengadsorpsi.

**Penandaan** Pada penandaan tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah  $^{131}\text{I}$  sebagai iodida dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per ml pada saat kalibrasi, (3) Nama dan jumlah bahan pengawet atau penstabil yang ditambahkan, (4) Penjelasan cara pemberian obat secara oral atau intravena, (5) Pernyataan yang menunjukkan tujuan penggunaan untuk diagnostik atau terapi, (6) Tanggal kadaluarsa, (7) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (8) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (9) Waktu paro  $^{131}\text{I}$  adalah 8,08 hari.

### **INJEKSI NATRIUM IODOHIPURAT $^{123}\text{I}$ Iodohipurate Sodium $^{123}\text{I}$ Injection**

*Natrium o-iodo- $^{123}\text{I}$ -hipurat* [56254-07-0]  
 $\text{C}_9\text{H}_7^{123}\text{INNaO}_3$

Injeksi Natrium Iodohipurat  $^{123}\text{I}$  adalah larutan steril dalam air yang mengandung natrium o-iodohipurat yang sebagian molekul mengandung Iodum radioaktif  $^{123}\text{I}$  dalam struktur molekulnya. Dapat mengandung bahan pengawet atau penstabil. Mengandung tidak kurang dari 90,0% tidak lebih 110,0% dari jumlah  $^{231}\text{I}$  sebagai Natrium Iodohipurat yang tertera pada etiket yang dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per ml ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, asam o-Iodohipurat dari jumlah yang tertera pada etiket. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 3,0% dari radioaktivitas jumlah.

**Pemerian** Larutan jernih, tidak berwarna.

**Baku pembanding Endotoksin BPFi**; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

*Asam o-Iodohipurat BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan dalam desikator, terlindung cahaya.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada *Radioaktivitas <1171>*. Spektrum gamma menunjukkan puncak energi utama pada 0,159 MeV yang sama seperti  $^{123}\text{I}$  yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Kemurnian radionuklida** Tidak kurang dari 85,0% radioaktivitas jumlah sebagai  $^{123}\text{I}$  lakukan penetapan radioaktivitas kemurnian radionuklida dalam larutan menggunakan alat cacahan yang sesuai yang tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah dosis total maksimum yang dianjurkan dalam ml, pada saat kedaluwarsa.

**pH<1071>** Antara 7,0 dan 8,5.

#### **Kemurnian radiokimia**

*Fase gerak. Larutan baku dan Sistem Kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan asam o-Iodohipurat*, kecuali kromatograf cair, juga dilengkapi dengan detektor radioaktivitas seperti tertera pada *Radioaktivitas <1171>*.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 50  $\mu\text{l}$  setara dengan 1,8 - 3,7 MBq (50  $\mu\text{Ci}$  - 100 mCi) injeksi ke dalam kromatograf, rekam seluruh luas puncak radioaktivitas. Radioaktivitas puncak asam o-Iodohipurat  $^{123}\text{I}$  tidak kurang dari 97,0% dari jumlah luas seluruh puncak dan waktu retensi dalam batas lebih kurang 10% dari waktu retensi puncak *Asam o-Iodohipurat BPFi*.

**Distribusi Biologik** Suntikkan secara intravena 0,10 ml hingga 0,15 ml injeksi dengan kandungan antara 0,75 - 22 MBq (20  $\mu\text{Ci}$  dan 600 mCi) ke dalam masing-masing vena ekor dari 3 ekor tikus dengan berat antara 125 hingga 225 g yang dibius. Jepit saluran kencing dengan hemostat. Bunuh tikus 1 jam setelah injeksi dan ambil dengan hati-hati melalui diseksi kantung kencing serta isinya dan tiroid secara utuh. Masukkan masing-masing organ dan bangkai tikus (kecuali ekor) dalam masing-masing wadah pencacah terpisah yang sesuai, tetapkan radioaktivitas masing-masing wadah dalam cacah per menit menggunakan detektor yang sesuai dan geometri cacah yang sama. Tetapkan persentase radioaktivitas masing-masing. Tidak kurang 75% dari dosis yang diberikan ditemukan dalam kantong kencing dan tidak lebih dari 3% dari dosis yang diberikan ditemukan dalam tiroid dalam 2 ekor tikus.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*, kecuali injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada hari akhir produksi dan bahwa tidak harus memenuhi anjuran seperti tertera pada *Volume dalam wadah*.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan *Radioaktivitas* dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per ml injeksi natrium iodohipurat  $^{123}\text{I}$  menggunakan alat pencacah yang sesuai, seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

**Penetapan asam o-iodohipurat** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran air-metanol P-asam asetat glasial P (75:25:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah asam o-Iodohipurat BPFI, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml.

**Larutan uji** Gunakan Injeksi Natrium Iodohipurat  $^{123}\text{I}$ .

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm kolom 10 cm x 8 mm berisi bahan pengisi L11. Laju alir lebih kurang 5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 500 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50  $\mu\text{l}$ ) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg per ml, asam o-iodohipurat dalam injeksi yang dianjurkan dengan rumus:

$$C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Asam o-Iodohipurat BPFI dalam mg per ml Larutan baku;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda.

**Penandaan** Kecuali pernyataan seperti tertera pada Penandaan dalam Injeksi pada penandaan tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah  $^{123}\text{I}$  sebagai natrium iodohipurat yang dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per ml pada saat kalibrasi, (3) Nama dan jumlah bahan pengawet atau penstabil yang ditambahkan, (4) Tanggal kadaluarsa (5) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (6) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (7) Waktu paro  $^{123}\text{I}$  adalah 13,2 jam.

## INJEKSI NATRIUM IODOHIPURAT $^{131}\text{I}$ Iodohipurate Sodium $^{131}\text{I}$ Injection

Mononatrium o-iodo- $^{131}\text{I}$ -hipurat [881-17-4]  
 $\text{C}_9\text{H}_7^{131}\text{INaO}_3$

Injeksi Natrium Iodohipurat  $^{131}\text{I}$  adalah larutan steril yang mengandung natrium o-iodohipurat yang sebagian molekul mengandung iodum radioaktif  $^{131}\text{I}$  dalam struktur molekulnya. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah  $^{131}\text{I}$  sebagai natrium iodohipurat yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per ml, ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 3,0% dari radioaktivitas jumlah.

**Pemerian** Larutan jernih, tidak berwarna. Larutan dalam wadah kaca dapat menjadi gelap karena pengaruh radiasi.

**Baku pembanding Endotoksin BPFI**; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada Radioaktivitas <1171>. Spektrum sinar gamma menunjukkan puncak energi pada 0,364 MeV yang sama seperti pada  $^{131}\text{I}$  yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Endotoksin bakteri**<201> Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per injeksi; V adalah jumlah dosis maksimum yang dianjurkan dalam ml pada saat kadaluarsa.

**pH**<1071> Antara 7,0 dan 8,5.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi kertas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Totolkan 1 tetes larutan yang mengandung kalium iodida P 0,2%, kalium iodida P 0,2% dan natrium bikarbonat P 1,0%, dan natrium tiosulfat P 1,0%, pada kertas kromatografi berukuran 300 mm x 25 mm, biarkan kering. Totolkan pada salah satu titik yang sama sejumlah volume injeksi yang diencerkan hingga memberikan laju cacahan lebih kurang 20.000 cacahan per menit, biarkan kering. Totolkan pada titik kedua 100  $\mu\text{l}$  larutan 50 mg natrium iodohipurat non radioaktif dalam 10 ml etanol P, biarkan kering. Eluasi secara kromatografi menurun dengan fase gerak berupa lapisan atas hasil pengocokan benzen P-asam asetat glasial P-air (2:2:1) selama 2,5 jam. Gunakan lapisan air untuk menjenuhkan bejana sebelum eluasi dimulai. Keringkan kromatografi di udara dan tetapkan distribusi radioaktivitas dengan menatah kromatogram menggunakan detektor radiasi terkolimasi. Tentukan letak bercak non radioaktif menggunakan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Radioaktivitas pita iodohipurat tidak kurang dari 97,0% dari radioaktivitas total, dan harga  $R_f$  dalam batas lebih kurang 10% dari  $R_f$  bercak nonradioaktif.

**Syarat lain** Memenuhi syarat Injeksi, kecuali injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada hari akhir produksi, dan tidak harus memenuhi anjuran seperti tertera pada Volume dalam wadah.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) per ml Injeksi Natrium Iodohipurat  $^{131}\text{I}$  menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>.



**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda.

**Penandaan** Kecuali pernyataan seperti tertera pada *Penandaan* dalam *Injeksi*, pada penandaan juga tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah  $^{131}\text{I}$  sebagai iodohipurat dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$  atau mCi) per ml pada saat kalibrasi, (3) Tanggal kadaluarsa (4) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (5) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (6) Waktu paro  $^{131}\text{I}$  adalah 8,08 hari.

## **NATRIUM KLORIDA** **Sodium Chloride**

*Natrium klorida* [7647-14-5]  
NaCl

BM 58,44

Natrium Klorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% NaCl, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Tidak mengandung zat tambahan.

**Pemerian** Hablur bentuk kubus, tidak berwarna atau serbuk hablur putih; rasa asin.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sedikit lebih mudah larut dalam etanol air mendidih; larut dalam gliserin; sukar larut dalam etanol.

**Identifikasi** Larutan (1 dalam 20) menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B, dan *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Keasaman atau kebasaaan** Larutkan 50,0 g dalam 200 ml air bebas karbon dioksida P, tambahkan 10 tetes indikator pH biru bromotimol LP. Jika larutan berwarna kuning, membutuhkan tidak lebih dari 1,0 ml *natrium hidroksida 0,020 N* untuk menghasilkan warna biru. Jika larutan berwarna biru atau hijau, membutuhkan tidak lebih dari 3,12 ml *asam klorida 0,020 N* untuk menghasilkan warna kuning.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

**Arsen <371>Metode I** Tidak lebih dari 3 bpj.

**Barium** Larutkan 4,0 g dalam 20 ml air, jika perlu saring, bagi larutan menjadi 2 bagian. Pada bagian pertama tambahkan 2 ml *asam sulfat 2 N* dan pada bagian lainnya tambahkan 2 ml air; kedua larutan menunjukkan kejernihan yang sama setelah didiamkan selama 2 jam.

**Iodida atau bromida** Ekstraksi 2,0 g serbuk halus dengan 25 ml *etanol P* hangat selama 3 jam. Dinginkan campuran, pisahkan garam yang tidak larut dengan penyaringan. Uapkan filtrat sampai kering, larutkan residu dalam 5 ml air, tambahkan 1 ml *kloroform P*.

Tambahkan secara hati-hati 5 tetes *klorin LP* (1 dalam 3), sambil terus dikocok: kloroform tidak menunjukkan warna ungu, kuning atau jingga.

**Kalsium dan magnesium** Tidak lebih dari 50 bpj kalsium dan magnesium (sebagai Ca). Larutkan 20 g dalam 200 ml air dan tambahkan 0,1 ml *asam klorida P*, 5 ml *dapar amonia-amonium klorida LP* dan 5 tetes *hitam eriokrom LP*. Titrasi dengan *dinatrium etilendiamin tetraasetat 0,005 M LV* sampai titik akhir berwarna biru yang jelas.

*Tiap ml dinatrium etilen diamintetraasetat 0,005 M setara dengan 0,2004 mg Ca*

**Besi <331>** Tidak lebih dari 2 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 5,0 g dalam 45 air dan 2 ml *asam klorida P*.

**Sulfat <361>** Tidak lebih dari 0,015%; sejumlah 1,0 g zat menunjukkan adanya sulfat, tidak lebih dari 0,15 ml *asam sulfat 0,020 N*.

**Natrium besi(II) sianida** Larutkan 25 g dalam 80 ml air dalam gelas ukur bersumbat kaca 100 ml. Tambahkan 2 ml *besi(II) sulfat LP* dan 1 ml *asam sulfat 2 N*, encerkan dengan air hingga 100 ml, campur. Sebagai kontrol masukkan 80 ml air ke dalam gelas ukur bersumbat kaca 100 ml lain, tambahkan 2 ml *besi(II) sulfat LP* dan 1 ml *asam sulfat 2 N*, encerkan dengan air hingga 100 ml, campur. Masukkan masing-masing 50 ml larutan-larutan tersebut ke dalam tabung pembanding warna. *Larutan uji* berwarna tidak lebih biru dari larutan pembanding, hal ini menunjukkan tidak adanya natrium besi(II) sianida.

**Aluminium** (Jika tercantum pada etiket untuk penggunaan hemodialisis) Tidak lebih dari 0,2 bpj. [Catatan jika perlu, Larutan baku dan Larutan uji dimodifikasi untuk mendapatkan kadar yang sesuai agar serapan dan kadar merupakan kurva linier.]

*Pengencer asam nitrat dan Larutan baku* Lakukan seperti pada uji *Aluminium* yang tertera pada *Natrium Bikarbonat*.

*Larutan uji* Masukkan 10,0 g natrium klorida ke dalam labu tentukur plastik 100-ml, tambahkan 50 ml air dan sonikasikan selama 30 menit. Tambahkan 4 ml *asam nitrat P*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti *Prosedur* yang tertera pada uji *Aluminium* dalam *Natrium Bikarbonat*. Hitung jumlah aluminium dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan uji*.

**Logam berat <371> Metode I** Tidak lebih dari 5 bpj.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode IV** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 250 mg, masukkan ke dalam wadah porselen, tambahkan 140 ml air dan 1 ml *diklorofluoresein LP*, campur. Titrasi

dengan perak nitrat 0,1 N LV, sampai perak klorida menggumpal dan campuran berwarna merah muda lemah.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N  
setara dengan 5,844 mg NaCl

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik.

Penandaan Cantumkan pada etiket, jika dimaksudkan untuk penggunaan hemodialisis.

### INJEKSI NATRIUM KLORIDA Sodium Chloride Injection

Injeksi Natrium Klorida adalah larutan steril natrium klorida dalam Air untuk Injeksi. Tidak mengandung zat antimikroba. Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% NaCl dari jumlah yang tertera pada etiket.

Identifikasi Menunjukkan reaksi Natrium cara A dan B, dan Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

Pirogen <231> Memenuhi syarat. [Catatan Injeksi yang mengandung natrium klorida lebih dari 0,9%, encerkan dengan Air untuk Injeksi hingga kadar 0,9%.]

pH <1071> Antara 4,5 dan 7,0.

Bahan partikulat <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi volume kecil.

Besi <331> Tidak lebih dari 2 bpj; lakukan penetapan menggunakan larutan uji sebagai berikut: encerkan 5,0 ml injeksi dengan air hingga 45 ml, dan tambahkan 2 ml asam klorida P.

Logam berat <371> Metode I Tidak lebih dari 10 bpj, dihitung terhadap jumlah natrium klorida; lakukan penetapan sebagai berikut: Masukkan sejumlah volume injeksi yang setara dengan 1,0 g natrium klorida ke dalam wadah yang sesuai, jika perlu uapkan hingga volume lebih kurang 20 ml, tambahkan 2 ml asam asetat 1 N, kemudian encerkan dengan air hingga 25 ml. Lakukan seperti tertera pada penetapan Uji Batas Logam Berat <371>, dalam hal ini gunakan 1 ml dan 10 ml Larutan baku timbal (10 µg Pb) dalam Larutan baku dan dalam Larutan monitor.

Syarat lain Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

Penetapan kadar Pipet sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 90 mg natrium klorida, masukkan ke dalam wadah porselen dan tambahkan 140 ml air dan 1 ml diklorofluoressein LP. Campur dan titrasi dengan perak nitrat 0,1 N LV, hingga perak klorida menggumpal dan campuran berwarna merah muda lemah.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N  
setara dengan 5,844 mg NaCl

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik.

### INJEKSI NATRIUM KLORIDA MAJEMUK INJEKSI RINGER Sodium Chloride Composition Injection

Injeksi Ringer adalah larutan steril Natrium Klorida, Kalium Klorida, dan Kalsium Klorida dalam Air untuk Injeksi, tiap 100 ml mengandung tidak kurang dari 323,0 mg dan tidak lebih dari 354,0 mg natrium (Na, setara dengan tidak kurang dari 820,0 mg dan tidak lebih dari 900,0 mg NaCl), tidak kurang dari 14,9 mg dan tidak lebih dari 16,5 mg kalium (K, setara dengan tidak kurang dari 28,5 mg dan tidak lebih dari 31,5 mg KCl), tidak kurang dari 8,20 mg dan tidak lebih dari 9,80 mg kalsium (Ca, setara dengan tidak kurang dari 30,0 mg dan tidak lebih dari 36,0 mg CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) dan tidak kurang dari 523,0 mg dan tidak lebih dari 580,0 mg klorida (Cl, sebagai NaCl, KCl dan CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O). Injeksi Ringer tidak boleh mengandung bahan antimikroba. [Catatan Injeksi Ringer mengandung ion kalsium, klorida, kalium dan natrium berturut-turut setara dengan lebih kurang 4,5; 156; 4 dan 147,5 miliekuivalen per liter. Larutkan 8,6 g natrium klorida; 300 mg kalium klorida dan 330 mg kalsium klorida dalam Air untuk Injeksi hingga 1000 ml, saring hingga jernih, masukkan dalam wadah yang sesuai dan sterilkan.]

Baku pembanding Endotoksin BPF1; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

Identifikasi Untuk Natrium, dan Kalium dengan reaksi nyala; untuk Kalsium dengan reaksi amonium oksalat; untuk Klorida dengan reaksi Klorida cara A, atau B, atau C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

Endotoksin bakteri <201> Mengandung tidak lebih dari 0,5 unit Endotoksin FI per ml.

pH <1071> Antara 5,0 dan 7,5.

Logam berat <371> Tidak lebih dari 0,3 bpj; lakukan penetapan dengan menguapkan 67 ml hingga lebih kurang 20 ml, tambahkan 2 ml asam asetat 1 N dan encerkan dengan air hingga 25 ml.

Syarat lain Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

Penetapan kadar kalsium [Catatan Kadar larutan baku dan larutan uji dapat dimodifikasi untuk memperoleh kurva spektrofotometer serapan atom.]

Larutan lantanum klorida Masukkan 17,69 g lantanum klorida ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan 1 ml air, dan tambahkan hati-hati 50 ml asam klorida P,

campur dan biarkan dingin, encerkan dengan air sampai tanda.

*Encerkan asam klorida* Buat campuran 6,75 ml *asam klorida P* dengan air hingga 3000 ml.

*Larutan blangko* Pipet 5 ml *Larutan lantanum klorida* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Enceran asam klorida* sampai tanda.

*Larutan persediaan kalsium* Masukkan 499,5 mg kalsium karbonat baku primer ke dalam labu tentukur 200-ml, dan tambahkan 10 ml air. Tambahkan hati-hati 5 ml *Enceran asam klorida*, goyang sampai kalsium karbonat larut, encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung kalsium, Ca, 1000 µg per ml.

*Larutan baku* Ke dalam 3 labu tentukur 100-ml masing-masing berisi 5,0 ml *Larutan lantanum klorida*, tambahkan 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml *Larutan persediaan kalsium*. Encerkan tiap labu dengan *Enceran asam klorida* sampai tanda. Masing-masing larutan mengandung kalsium, Ca, 10,0 µg; 15,0 µg; dan 20,0 µg per ml.

*Larutan uji* Pipet 20 ml injeksi Ringer setara dengan lebih kurang 1,8 mg kalsium, Ca, ke dalam labu tentukur 100-ml berisi 5,0 ml *Larutan lantanum klorida*, encerkan dengan *Enceran asam klorida* sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada garis emisi kalsium pada 422,7 nm, dengan spektrofotometer serapan atom yang dilengkapi dengan lampu tabung katode kalsium dan nyala asetilen udara, terhadap blangko. Gambarkan kurva dari serapan larutan baku terhadap kadar kalsium dalam µg per ml, dengan menghubungkan 3 titik. Hitung kadar kalsium dalam mg per 100 ml injeksi yang digunakan, dengan rumus:

$$0,5(C)$$

C adalah kadar kalsium dalam µg per ml *Larutan uji*.

#### Penetapan kadar kalium

*Larutan baku persediaan* Timbang 190,7 mg kalium klorida P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, larutkan dalam 50 ml air, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 100 µg kalium.

*Larutan baku* Larutkan 1,093 g natrium klorida P ke dalam 100,0 ml air, masukkan masing-masing 10,0 ml larutan ini ke dalam 5 labu tentukur 100-ml berisi 10,0 ml larutan bahan pembasah nonionik (1 dalam 500) yang sesuai. Pada salah satu labu, tambahkan dengan air sampai tanda, dan gunakan sebagai blangko. Ke dalam labu masukkan berturut-turut 5,0 ml; 10,0 ml; 15,0 ml dan 20,0 ml *Larutan baku persediaan*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Pipet 10,0 ml injeksi Ringer ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10,0 ml larutan bahan pembasah nonionik yang sesuai (1 dalam 500), encerkan dengan air sampai tanda.

*Kurva baku* Atur fotometer nyala hingga transmitans maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 766 nm

dan transmitans nol menggunakan blangko, kemudian transmitans 100% menggunakan *Larutan baku* yang paling pekat. Ukur transmitans semua *Larutan baku* dan buat kurva transmitans terhadap kadar kalium.

*Prosedur* Atur alat seperti tertera pada Kurva baku, ukur transmitans *Larutan uji* dan hitung kadar kalium dalam mg per 100 ml injeksi.

#### Penetapan kadar natrium

*Larutan baku persediaan* Timbang 254,2 mg natrium klorida P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, larutkan dalam 50 ml air, masukkan dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 100 µg natrium.

*Larutan baku* Masukkan masing-masing 10,0 ml larutan bahan pembasah nonionik (1 dalam 500) yang sesuai ke dalam 5 labu tentukur 100-ml. Pada salah satu labu, tambahkan air sampai tanda dan gunakan sebagai blangko. Ke dalam 4 labu lain berturut-turut masukkan 5,0 ml; 10,0 ml; 15,0 ml dan 20,0 ml *Larutan baku persediaan*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Pipet 5,0 ml Injeksi Ringer ke dalam labu tentukur 1000-ml berisi 100,0 ml larutan bahan pembasah nonionik (1 dalam 500) yang sesuai, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada Kurva baku dan *Prosedur* dalam *Penetapan kadar kalium*, atur fotometer nyala hingga transmitans maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 589 nm. Hitung kadar natrium dalam mg per 100 ml injeksi.

#### Penetapan kadar klorida

Pipet 10,0 ml *Injeksi Ringer* ke dalam wadah porselen, tambahkan 140 ml air dan 1 ml diklorfluoresin LP dan campur. Titrasi dengan perak nitrat 0,1 N LV hingga perak klorida menggumpal dan campuran berubah menjadi merah muda lemah.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 3,545 mg Cl

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah kaca atau plastik dosis tunggal, sebaiknya dari kaca Tipe I atau Tipe II.

#### INJEKSI NATRIUM KROMAT <sup>51</sup>Cr Sodium Chromate <sup>51</sup>Cr Injection

*Dinatrium kromat* [7775-11-3]  
Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>

Injeksi Natrium Kromat <sup>51</sup>Cr adalah larutan steril krom radioaktif <sup>51</sup>Cr dalam Air untuk Injeksi sebagai natrium kromat. Pada larutan dapat ditambahkan natrium klorida dalam jumlah tertentu untuk membuat larutan isotonis seperti tertera pada *Injeksi*. <sup>51</sup>Cr dihasilkan dari penembakan neutron pada <sup>50</sup>Cr yang diperkaya. Injeksi Natrium Kromat <sup>51</sup>Cr mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah <sup>51</sup>Cr

sebagai natrium kromat yang tertera pada etiket dinyatakan dalam MBq (mCi) per ml ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Kandungan natrium kromat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Aktivitas jenis tidak kurang dari 370 MBq (10 mCi) per mg natrium kromat pada saat kedaluwarsa. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 10,0% dari radioaktivitas total.

**Pemerian Larutan** jernih, tidak berwarna.

**Baku pembanding Endotoksin BPFI**; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada *Radioaktivitas* <1171>; spektrum sinar gamma menunjukkan puncak energi utama 0,320 MeV yang sama seperti  $^{51}\text{Cr}$  yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah dosis total maksimum yang dianjurkan pada saat kedaluwarsa.

**pH** <1071> Antara 7,5 dan 8,5.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Totolkan sejumlah volume injeksi yang diencerkan hingga laju cacahan lebih kurang 20.000 cacahan per menit, pada kertas kromatografi berukuran 25 mm x 300 mm. Eluasi dengan fase gerak campuran air - etanol P - amonium hidroksida P (5:2:1). Biarkan di udara hingga kering dan tetapkan distribusi radioaktivitas dengan menatah kromatogram menggunakan detektor radiasi terkolimasi. Radioaktivitas pita kromat tidak kurang dari 90,0% dari radioaktivitas total. Harga  $R_f$  pita kromat berada pada batas lebih kurang, 10% dari harga  $R_f$  natrium kromat yang digunakan sebagai baku ditetapkan dengan cara yang sama.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Injeksi*, kecuali *Volume dalam Wadah*.

#### **Penetapan kadar natrium kromat**

*Larutan baku persediaan* Larutkan 3,735 g kalium kromat P dalam 1000 ml air hingga kadar kromium lebih kurang 1,0 mg per ml.

*Larutan baku* Pipet masing-masing 0,25; 0,50; 0,75; 0,100; 0,125; dan 0,150 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam masing-masing labu tentukur 100-ml, Tambahkan 0,42 ml *natrium bikarbonat 0,1 N* ke dalam setiap labu, dan encerkan dengan air sampai tanda, larutan ini mempunyai kadar kromium 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; dan 1,50  $\mu\text{g}$  per ml.

*Larutan uji* Gunakan *Injeksi*.

*Blangko* Masukkan 0,42 ml *natrium bikarbonat 0,1 N* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji*, *Larutan baku*, dan *Blangko* pada garis emisi kromium 357,7 nm dengan spektrofotometer serapan atom seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya* <1191> dilengkapi dengan lampu 'hollow' katoda kromium dan nyala asetilen - udara menggunakan air sebagai blangko. Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara serapan *Larutan baku* dan *Blangko* terhadap kadar kromium dalam  $\mu\text{g}$  per ml dan tarik garis lurus. Kurva baku yang sesuai memiliki intersep antara -0,002 dan +0,002 dan koefisien regresi tidak kurang dari 0,99. Dari kurva yang diperoleh tentukan kadar kromium dalam  $\mu\text{g}$  per ml injeksi yang digunakan. Hitung jumlah dalam  $\mu\text{g}$  per ml natrium kromat, dengan rumus:

$$3,115C$$

3,115 adalah faktor konversi.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) per ml *Injeksi Natrium Kromat*  $^{51}\text{Cr}$  menggunakan alat pencacah yang sesuai, seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas* <1171>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda.

**Penandaan** Selain pernyataan seperti tertera pada *Penandaan* dalam *Injeksi*, pada penandaan juga tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah natrium kromat dinyatakan dalam  $\mu\text{g}$  per ml, (3) Jumlah  $^{51}\text{Cr}$  sebagai natrium kromat yang dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) per ml pada saat kalibrasi, (4) Pernyataan yang menunjukkan tujuan penggunaan, untuk diagnostik atau terapi, (5) Tanggal kedaluwarsa, (6) Peringatan "Awas bahan radioaktif", (7) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif dan jumlah kromium, (8) Waktu paro  $^{51}\text{Cr}$  adalah 27,8 hari.

## **NATRIUM LAURIL SULFAT**

### **Sodium Lauryl Sulfate**

*Natrium monododesil sulfat* [151-21-3]  
 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$

Natrium Lauril Sulfat adalah campuran dari natrium alkil sulfat, sebagian besar mengandung natrium lauril sulfat,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$ . Kandungan campuran natrium klorida dan natrium sulfat tidak lebih dari 8,0%.

**Pemerian** Hablur, kecil, berwarna putih atau kuning muda; agak berbau khas.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; membentuk larutan opalesen.

**Identifikasi Larutan zat** (1 dalam 10) menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>, dan setelah diasamkan dengan *asam klorida P*, dididihkan perlahan-lahan selama 20 menit menunjukkan reaksi *Sulfat* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Kebasaan** Larutkan 1,0 g dalam 100 ml air, tambahkan *merah fenol LP*, dan titrasi dengan *asam klorida 0,10 N*: diperlukan tidak lebih dari 0,60 ml untuk netralisasi.

**Arsen** <321> *Metode II* Tidak lebih dari 3 bpj.

**Logam berat** *Metode II* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Natrium klorida** Timbang saksama lebih kurang 5 g, larutkan dalam 50 ml air. Netralkan larutan dengan *asam nitrat 0,8 N* menggunakan kertas lakmus sebagai indikator, tambahkan 2 ml *kalium kromat LP*, dan titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV*.

Tiap ml *perak nitrat 0,1 N*  
setara dengan 5,844 ng NaCl

#### **Natrium sulfat**

*Larutan timbal nitrat* Larutkan 33,1 g *timbal(II) nitrat P* dalam air hingga 1000 ml.

*Prosedur* Timbang saksama lebih kurang 1 g, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 35 ml air, hangatkan hingga larut. Ke dalam larutan yang hangat tambahkan 2,0 ml *asam nitrat 1 N*, campur, dan tambahkan 50 ml *etanol P*. Panaskan larutan hingga mendidih, dan dengan perlahan-lahan tambahkan 10 ml *Larutan timbal nitrat* dengan diaduk-aduk. Tutup gelas piala, didihkan perlahan-lahan selama 5 menit, dan biarkan. Jika cairan bening berkabut, biarkan selama 10 menit, panaskan hingga mendidih dan biarkan. Pada saat larutan hampir mendidih, dekantasi cairan sebanyak-banyaknya, saring dengan kertas saring 9 cm (Whatman nomor 41 atau yang setara). Cuci empat kali dengan cara dekantasi, tiap kali dengan 50 ml *etanol P 50%*, dan dididihkan campuran. Akhirnya pindahkan kertas saring ke dalam gelas piala semula, dan segera tambahkan 30 ml air, 20,0 ml *dinatrium edetat 0,05 MLV*, dan 1 ml *dapar amonia-amonium klorida LP*. Hangatkan hingga endapan larut, tambahkan 0,2 ml *hitam eriokrom LP* dan titrasi dengan *zink sulfat 0,05 MLV*.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,05M*  
setara dengan 7,102 mg  $Na_2SO_4$

**Alkohol tidak tersulfatasi** Timbang saksama lebih kurang 10 g, larutkan dalam 100 ml air, dan tambahkan 100 ml *etanol P*, pindahkan larutan ke dalam corong pisah dan ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 50 ml *heksan P*. Jika terbentuk emulsi dapat ditambahkan *natrium klorida P* untuk memisahkan kedua lapisan. Cuci

kumpulan ekstrak heksan tiga kali, tiap kali dengan 50 ml air, dan keringkan dengan *natrium sulfatanhidrat P*. Saring ekstrak heksan ke dalam gelas piala yang sudah ditara, uapkan di atas tangas uap hingga bau heksan tidak tercium lagi, keringkan dan timbang. Bobot residu tidak lebih dari 4,0% dari bobot *natrium lauril sulfat*.

**Alkohol total** Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam labu Kjeldahl 800 ml dan tambahkan 150 ml air, 50 ml *asam klorida P* dan beberapa butir batu didih. Kemudian refluks, panaskan hati-hati untuk menghindari terjadinya busa yang melimpah dan dididihkan selama lebih kurang 4 jam. Dinginkan labu, bilas kondensor dengan *eter P*, kumpulkan eter dalam labu dan pindahkan isinya ke dalam corong pisah 500 ml, bilas labu dengan *eter P* dua kali dan tambahkan cucian ke corong pisah. Ekstraksi larutan dua kali, tiap kali dengan 75 ml *eter P*, uapkan kumpulan ekstrak eter dalam gelas piala yang sudah ditara di atas tangas uap, keringkan residu pada suhu 105° selama 30 menit, dinginkan dan timbang. Alkohol total tidak kurang dari 59,0% dari bobot *natrium lauril sulfat* digunakan.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

#### **NATRIUM METABISULFIT** **Sodium Metabisulfite**

*Dinatrium piro-sulfat* [7681-57-4]  
 $Na_2S_2O_5$

BM 190,10

*Natrium Metabisulfit* mengandung sejumlah  $Na_2S_2O_5$ , setara dengan tidak kurang dari 65,0% dan tidak lebih dari 67,4%  $SO_2$ .

**Pemerian** Hablur putih atau hablur putih kekuningan, berbau belerang dioksida.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air dan dalam gliserin; sukar larut dalam etanol.

**Identifikasi Larutan zat** (1 dalam 20) menunjukkan reaksi terhadap *Natrium* cara *A* dan *B* dan *Sulfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Klorida** Tidak lebih dari 0,015%. Larutkan 1,0 g dalam 10 ml air, dan tambahkan 6 ml *hidrogen peroksida P 30%*. Tambahkan *natrium hidroksida 1 N* hingga larutan sedikit basa terhadap *fenolfalein LP*, encerkan dengan air hingga 100 ml, dan campur. Pipet 2,0 ml dari larutan tersebut, encerkan dengan 20 ml air, dan tambahkan 1 ml *asam nitrat P* dan 1 ml *perak nitrat PL*. Campur, biarkan selama 5 menit di tempat yang terlindung cahaya langsung, dan bandingkan kekeruhan, bila ada, dengan kekeruhan yang dihasilkan dari 2 ml larutan pembanding (yang dibuat dengan mengencerkan 0,71 ml *asam klorida 0,020 N* hingga 100 ml) dalam volume yang sama dengan kandungan pereaksi yang digunakan dalam larutan uji

seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya* <1191>: kekeruhan yang dihasilkan dari larutan uji tidak lebih dari larutan pembanding.

**Tiosulfat** Tidak lebih dari 0,015%. Campur 2,2 g dengan 10 ml *asam klorida 1 N* dalam gelas piala 50 ml. Dididihkan dengan hati-hati selama 5 menit, dinginkan, dan pindahkan ke dalam tabung reaksi kecil. Kekeruhan tidak lebih dari yang dihasilkan 0,10 ml *natrium tiosulfat 0,10 N*, yang ditetapkan dengan cara yang sama.

**Arsen** <321> *Metode I* Tidak lebih dari 3 bpj. Buat larutan uji sebagai berikut: larutkan 1,0 g dalam 10 ml air dalam gelas piala 150 ml, secara hati-hati tambahkan 10 ml *asam nitrat P* dan 5 ml *asam sulfat P*, dan uapkan di atas tangas uap hingga volume lebih kurang 5 ml. Tempatkan gelas piala di atas lempeng pemanas, dan panaskan hingga tampak asap tebal putih yang keluar pertama dari belerang trioksida. Dinginkan, bilas hati-hati bagian dalam gelas piala dengan lebih kurang 10 ml air, dan panaskan kembali hingga timbul asap putih yang tebal dari belerang trioksida. Dinginkan, ulangi pembilasan dan pemanasan dan dinginkan lagi. Larutan ini memenuhi syarat untuk pengujian tanpa penambahan 20 ml *asam sulfat 7 N* seperti tertera pada *Prosedur dalam Uji Batas Arsen s* <321>.

**Besi** <331> Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 500 mg dalam 14 ml larutan *asam klorida P* (2 dalam 7), dan uapkan di atas tangas uap hingga kering. Larutkan residu dalam 7 ml larutan *asam klorida P* (2 dalam 7), dan uapkan di atas tangas uap hingga kering. Larutkan kembali residu dalam campuran 2 ml *asam klorida P* dan 20 ml air, tambahkan 3 tetes air *brom LP*, dan dididihkan untuk menghilangkan brom, dinginkan dan encerkan dengan air hingga 47 ml.

**Logam berat** <371> *Metode I* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 1 g dalam 10 ml air, tambahkan 5 ml *asam klorida P*, uapkan di atas tangas uap sampai kering. Larutkan residu dalam 25 ml air.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat masukkan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca yang berisi 50,0 ml *iodum 0,1 N LV* dan goyangkan hingga larut. Biarkan selama 5 menit di tempat terlindung cahaya, tambahkan 1 ml *asam klorida P* dan titrasi kelebihan iodium dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir.

Tiap ml *iodum 0,1 N*  
setara dengan 3,203 mg  $SO_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terisi penuh, tertutup rapat dan hindarkan dari panas yang berlebihan.

## NATRIUM NITROPRUSIDA Sodium Nitroprusside

*Dinatrium pentasianonitrosilferat(2-) dihidrat* [13755-38-9]

$Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$  BM 297,95

Anhidrat [14402-89-2] BM 261,92

Natrium Nitroprusida mengandung tidak kurang dari 99,0%  $Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$ .

**Pemerian** Serbuk atau hablur, coklat kemerahan; praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol; sangat sukar larut dalam kloroform; tidak larut dalam benzen.

**Baku pembanding** *Natrium Nitroprusida BPF1*; Bentuk dihidrat tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Endotoksin BPF1*; [Perhatian Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. [Catatan Gunakan alat kaca dengan aktinik rendah pada penetapan ini.] Spektrum serapan pada 350 nm - 700 nm dari larutan (1 dalam 135) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Natrium Nitroprusida BPF1*.

B. Larutkan 5 mg zat dalam 2 ml air, tambahkan 2 tetes *aseton P* dan 0,5 ml *natrium hidroksida 2 N*; terjadi warna jingga, warna akan berubah menjadi lembayung dengan penambahan 2 ml *asam asetat P*.

C. Larutan zat (1 dalam 4) menunjukkan reaksi nyala untuk *Natrium* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Air** <1031> *Metode I* Antara 9,0% dan 15,0%.

**Zat tidak larut** Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 10,0 g zat dalam 50 ml air, panaskan di atas tangas uap selama 30 menit, saring, kemudian cuci residu dengan air dan keringkan pada suhu 105° hingga bobot tetap: residu tidak lebih dari 1 mg.

**Klorida** Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan sebagai berikut:

*Larutan baku klorida* Larutkan 42,4 mg *kalium klorida P* dalam air hingga 100,0 ml. Tiap ml larutan mengandung 0,2 mg klorida.

*Prosedur* Masukkan 1,0 g zat ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, dan pipet 1 ml *Larutan baku klorida* ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang lain, tambahkan ke dalam masing-masing labu 85 ml air. Ke dalam labu

yang berisi zat uji tambahkan 15 ml larutan *tembaga(II) sulfat P* (83 dalam 1000), campur dan biarkan partikel yang tidak larut mengendap. Tambahkan dengan hati-hati larutan *tembaga(II) sulfat P* (83 dalam 1000) ke dalam labu yang berisi larutan baku klorida, sambil dicampur hingga diperoleh warna sesuai dengan warna pada labu pertama. Saring isi masing-masing labu dan buang 25 ml filtrat pertama. Ke dalam masing-masing 10 ml filtrat selanjutnya, tambahkan 2 ml *asam nitrat P* dan campur. Kemudian tambahkan masing-masing 1 ml *perak nitrat 1 N*, campur: larutan uji tidak lebih keruh dari *Larutan baku klorida*.

**Besi(III) sianida** Tidak lebih dari 0,02%, lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 500 mg zat dalam 20 ml *amonium asetat LP* yang telah diatur pH hingga 4,62 dengan penambahan *asam asetat 1 N*. Bagi larutan ini menjadi 2 bagian (A dan B) dalam masing-masing labu tentukur 50-ml. Tambahkan ke dalam labu B 1,0 ml larutan segar *kalium besi (III) sianida P*, mengandung 78 µg per ml. Ke dalam kedua labu tambahkan 5 ml larutan *besi (II) amonium sulfat P* (1 dalam 1000), encerkan dengan air sampai tanda. Diamkan kedua labu selama 1 jam dan ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 720 nm, menggunakan larutan blangko yang dibuat dengan melarutkan 250 mg zat dalam 10 ml *amonium asetat LP* (pH 4,62) dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Serapan larutan dalam labu A tidak lebih dari serapan larutan dalam labu B dikurangi dengan serapan larutan dalam labu A.

**Besi(II) sianida** Tidak lebih dari 0,02%, lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 2,0 g dalam 40 ml air, bagi larutan menjadi 2 bagian (A dan B), dalam masing-masing labu tentukur 50-ml. Ke dalam labu B tambahkan 2 ml larutan segar *kalium besi(II) sianida P*, mengandung 200 µg per ml. Ke dalam kedua labu tambahkan masing-masing 0,2 ml *besi(III) klorida LP*, encerkan dengan air sampai tanda. Diamkan selama tepat 20 menit dan ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 695 nm, menggunakan larutan blangko yang dibuat dengan melarutkan 1,0 g zat dalam air hingga 50 ml. Serapan larutan dalam labu A tidak lebih dari serapan larutan dalam labu B dikurangi serapan larutan dalam labu A.

**Sulfat** Tidak lebih dari 0,01%.

*Larutan uji* Larutkan 5,0 g zat dalam air hingga 250,0 ml, saring larutan ke dalam labu alas datar berskala 250 ml.

*Larutan baku sulfat* Larutkan 15 mg *natrium sulfat anhidrat P* dalam air hingga 100,0 ml. Tiap ml larutan mengandung 0,1 mg sulfat. Pipet 5 ml *Larutan baku sulfat* ke dalam labu alas datar berskala 250 ml, encerkan hingga volume sama dengan volume *Larutan uji*.

*Prosedur* Ke dalam masing-masing labu *Larutan uji* dan *Larutan baku* tambahkan 10 tetes *asam asetat glasial P* dan 5 ml *barium klorida 1 N*, biarkan selama 10 menit.

Letakkan kedua labu pada lampu fluoresensi: *Larutan uji* tidak lebih keruh dari *Larutan baku sulfat*.

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera natrium nitroprusida adalah steril, harus memenuhi syarat uji *Sterilitas <71>* dan *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Natrium Nitroprusida untuk Injeksi*. Jika pada etiket tertera natrium nitroprusida harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, harus memenuhi syarat *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Natrium Nitroprusida untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 130 ml *air bebas klorida P*. Titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV*. Tetapkan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan elektrode perak-perak klorida.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 14,90 mg  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan pada suhu 25°, diperbolehkan antara 15° dan 30°.

**Penandaan** Jika digunakan untuk pembuatan sediaan injeksi, pada etiket dinyatakan steril atau harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi.

## NATRIUM NITROPRUSIDA UNTUK INJEKSI Sodium Nitroprusside for Injection

Natrium Nitroprusida untuk Injeksi adalah Natrium Nitroprusida yang sesuai untuk penggunaan parenteral. Mengandung Natrium Nitroprusida,  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Natrium Nitroprusida BPFI*; Bentuk dihidrat tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Endotoksin BPFI*; [Perhatian Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Masukkan 50 mg zat dalam tabung reaksi kecil, tambahkan 10 ml larutan *asam askorbat P* (1 dalam 50), campur. Tambahkan 1 ml larutan *asam klorida P* (1 dalam 10) dan tambahkan 1 sampai 2 ml *natrium hidroksida 1 N* tetes demi tetes: terjadi warna biru yang tidak stabil.

**Larutan terkonstitusi** Pada waktu digunakan memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Endotoksin bakteri <201>** Mengandung tidak lebih 0,05 unit Endotoksin FI per µg neomisin.

**Air <1031>Metode I** Tidak lebih dari 15,0%.

**Syarat lain Memenuhi Identifikasi A** dalam *Natrium Nitroprusida* dan memenuhi syarat *Sterilitas <71>*, *Keseragaman sediaan <911>* dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 7,1* Larutkan 1,36 g kalium fosfat monobasa P dan 5,2 ml larutan tetrabutylamonium hidroksida P dalam metanol P (1 dalam 4) dalam air hingga 1000 ml dan atur pH hingga 7,1 dengan penambahan asam fosfat P atau larutan tetrabutylamonium hidroksida P.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar pH 7,1 - asetonitril P* (lebih kurang 70:30). [Catatan Gunakan alat gelas aktinik rendah selama prosedur berikut.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Natrium Nitroprusida BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan baku 1* (jika pada etiket tertera hanya total isi wadah) Pindahkan isi satu wadah natrium nitroprusida ke dalam labu tentukur 100-ml dengan bantuan *Fase gerak*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet sejumlah larutan, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji 2* (jika pada etiket tertera jumlah natrium nitroprusida dalam volume larutan terkonstitusi) Konstitusikan natrium nitroprusida untuk injeksi seperti tertera pada etiket. Encerkan larutan terkonstitusi secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi L11 dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan untuk puncak analit tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, natrium nitroprusida, Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO].2H<sub>2</sub>O dalam wadah atau larutan terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$L \left( \frac{C}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

L adalah jumlah dalam mg natrium nitroprusida dalam wadah atau dalam volume larutan terkonstitusi; C adalah kadar *Natrium Nitroprusida BPFi* dalam mg per ml

*Larutan baku*; D adalah kadar natrium nitroprusida dalam mg per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* dalam wadah seperti tertera pada etiket atau dalam volume larutan terkonstitusi yang digunakan; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan.** Dalam *Wadah padatan steril* tidak tembus cahaya seperti tertera pada *Injeksi*.

## INJEKSI NATRIUM PERTEKNETAT <sup>99m</sup>Tc Sodium Pertechnetate <sup>99m</sup>Tc Injection

*Natrium Perteknetat* (Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>) [23288-60-0]

Injeksi Natrium Perteknetat <sup>99m</sup>Tc adalah larutan steril, sesuai untuk pemakaian intravena atau oral, mengandung teknisium radioaktif <sup>99m</sup>Tc dalam bentuk natrium perteknetat dan *natrium klorida P* secukupnya untuk membuat larutan isotonis. Teknisium-99m adalah nuklida radioaktif yang terbentuk dari peluruhan radioaktif molibdenum 99. Molibdenum 99 adalah isotop radioaktif dari molibdenum dan dapat dibuat dari penembakan neutron molibdenum 98 atau hasil fisi uranium.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah <sup>99m</sup>Tc yang tertera pada etiket, ditetapkan pada saat kalibrasi dilakukan. Bentuk kimia lain <sup>99m</sup>Tc tidak lebih dari 5,0% dari total radioaktivitas.

**Baku pembanding Endotoksin BPFi**; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada *Radioaktivitas <1171>*. Spektrum sinar gamma menunjukkan puncak energi utama 0,144 MeV yang sama seperti pada <sup>99m</sup>Tc.

**Endotoksin bakteri<201>** Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah dosis total maksimum yang dianjurkan, dalam ml, pada saat kadaluarsa.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 7,5.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan sejumlah volume injeksi yang diencerkan secukupnya hingga memberikan laju cacahan lebih kurang 20.000 cacahan per menit, pada kertas kromatografi berukuran 300 mm x 25 mm. Eluasi secara kromatografi menaik dengan fase gerak campuran *aseton P-asam klorida 2 N* (80:20). Keringkan kertas kromatografi di udara. Tetapkan distribusi radioaktivitas dengan menatah kromatogram menggunakan detektor radiasi terkolimasi. Radioaktivitas pita perteknetat tidak kurang dari 95% dari radioaktivitas total yang digunakan



sebagai baku dan harga  $R_f$  pita perteknetat (lebih kurang 0,9) berada pada batas lebih kurang 10,0% dari harga  $R_f$  natrium perteknetat  $^{99m}\text{Tc}$  yang digunakan sebagai baku dan ditetapkan dengan cara yang sama.

**Kemurnian radionuklida** Lakukan penetapan radioaktivitas masing-masing cemaran radionuklida, dalam kBq per MBq ( $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m, dalam injeksi menggunakan alat pencacah yang sesuai, seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

*Untuk injeksi yang dibuat dari teknisium-99m yang diturunkan dari molibden-99 induk yang berasal dari penembakan molibdenum stabil dengan neutron.*

**MOLIBDENUM 99** Dalam Injeksi dapat ditunjukkan oleh spektrum sinar gamma yang karakteristik. Puncak energi yang paling menonjol dari nuklida radioaktif ini mempunyai energi 0,181 MeV, 0,740 MeV, dan 0,780 MeV. Molibdenum 99 meluruh dengan waktu paro 66,0 jam. Jumlah molibdenum 99 tidak lebih besar dari 0,15 kBq per MBq (0,15  $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m per dosis injeksi pada saat penggunaan.

**CEMARAN RADIONUKLIDA PEMANCAR SINAR GAMMA LAIN** Total cemaran radionuklida pemancar sinar gamma lain tidak lebih besar dari 0,5 kBq per mBq (0,5  $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m, dan tidak lebih dari 92 kBq (2,5  $\mu\text{Ci}$ ) per dosis injeksi pada saat penggunaan.

*Untuk injeksi yang dibuat dengan teknisium-99m yang berasal dari molibdenum 99 induk yang terbentuk dari fisi uraian-cemaran pemancar sinar beta.*

**MOLIBDENUM-99** Memenuhi syarat untuk injeksi yang dibuat dari penembakan molibdenum stabil dengan neutron.

**IODUM-131** Puncak energi yang paling menonjol dari radionuklida ini mempunyai energi 0,364 MeV, Iodum 131 meluruh dengan waktu paro 8,08 hari. Kadar iodum-131 tidak lebih dari 0,05 kBq per MBq (0,05  $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m pada saat penggunaan.

**RUTENIUM-103** Puncak energi yang paling menonjol dari radionuklida mempunyai energi 0,497 MeV. Retenium-103 meluruh dengan waktu paro 39,5 hari. Kadar rutenium-103 tidak lebih dari 0,05 kBq per MBq (0,05  $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m pada saat penggunaan.

**STRONSIUM-89** Tetapkan stronsium-89 dalam injeksi dengan sistem pencacah yang sesuai untuk deteksi radiasi partikulat. Stronsium-89 meluruh oleh emisi beta dengan energi maksimum sebesar 1,463 MeV, dan waktu paro 52,7 hari. Stronsium-89 tidak lebih dari 0,0006 kBq per MBq (0,0006  $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m pada saat penggunaan.

**STRONSIUM-90** Tetapkan stronsium-90 dalam injeksi dengan sistem pencacah yang sesuai untuk deteksi radiasi partikulat. Stronsium-90 meluruh oleh emisi beta dengan energi maksimum sebesar 0,546 MeV, dan waktu paro 27,7 tahun. Stronsium-90 tidak lebih dari

0,0006 kBq per MBq (0,0006  $\mu\text{Ci}$  per mCi) teknisium-99m pada saat penggunaan.

**CEMARAN RADIONUKLIDA LAIN** Tidak lebih dari 0,01% berasal dari pemancar sinar beta dan sinar gamma yang lain pada saat penggunaan. Tidak lebih dari 0,001 Bq cemaran pemancar alfa per 1 MBq (atau 0,001 mCi cemaran pemancar alfa per 1 mCi) teknisium-99m pada saat penggunaan.

**Kemurnian kimia**

**Aluminium** Tidak lebih dari 10  $\mu\text{g}$  per ml (Ditetapkan jika dalam membuat injeksi, pemisahan dilakukan menggunakan kolom alumina).

**Larutan baku aluminium** Timbang saksama 35,17 mg aluminium kalium sulfat dodekahidrat P larutkan dalam air sampai 1000,0 ml (mengandung aluminium 2  $\mu\text{g}$  per ml).

**Prosedur Pipet** 10 ml Larutan baku aluminium ke dalam masing-masing dua labu tentukur 50-ml. Pada tiap labu tambahkan 3 tetes metil jingga LP dan 2 tetes amonium hidroksida 6 N, kemudian tambahkan asam klorida 0,5 N tetes, hingga larutan menjadi merah. Pada salah satu labu tambahkan 25 ml natrium tioglikolat LP dan pada labu yang lain tambahkan 1 ml dinatrium etilendiamin tetraasetat LP. Pada masing-masing labu tambahkan 5 ml eriokrom sianin LP dan 5 ml dapar asetat LP, dan tambahkan air sampai tanda. Tetapkan segera serapan larutan yang mengandung natrium tioglikolat LP pada panjang gelombang serapan maksimum 535 nm, menggunakan dinatrium etilendiamin tetraasetat LP sebagai blangko. Ulangi prosedur dua kali masing-masing menggunakan 1,0 ml Injeksi. Hitung kadar aluminium dalam  $\mu\text{g}$  per ml dalam injeksi, dengan rumus;

$$20 \left( \frac{T_U}{T_S} \right)$$

$T_U$  dan  $T_S$  berturut-turut adalah Larutan uji dan Larutan baku aluminium.

**Metil etil keton** Tidak lebih dari 0,1% (Ditetapkan jika dalam membuat injeksi, pemisahan dilakukan dengan ekstraksi cair-cair). Masukkan 1,0 ml injeksi dalam wadah yang sesuai dan encerkan dengan air hingga 20,0 ml. Tambahkan 2,0 ml larutan natrium hidroksida 1 N, campur, tambahkan 2,0 ml iodum 0,1 N tetes demi tetes, dan campur. Pada waktu yang sama buat larutan baku menggunakan 1,0 ml larutan metil etil keton (1 dalam 1000) dalam jenis wadah yang sama, dan encerkan dengan air sampai 20,0 ml. Tambahkan 2,0 ml natrium hidroksida 1 N, campur, tambahkan 2,0 ml larutan iodum 0,1 N tetes demi tetes, dan campur. Setelah dua menit, kekeruhan larutan uji tidak melebihi larutan baku.

**Syarat lain** Memenuhi syarat Injeksi, kecuali injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada hari akhir produksi dan bahwa tidak

harus memenuhi anjuran seperti tertera pada *Volume dalam wadah*.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) per ml Injeksi Natrium Perteknetat  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem kalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal, atau dosis ganda.

**Penandaan** Jika digunakan secara intravena, kecuali pernyataan seperti tertera pada *Penandaan dalam Injeksi*, pada penandaan juga tertera: (1) Saat dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  sebagai natrium perteknetat dinyatakan sebagai MBq ( $\mu\text{Ci}$  per mCi) total dan per ml pada saat kalibrasi, (3) Penjelasan cara pemberian obat, oral atau intravena, (4) Tanggal kadaluarsa, (5) Pernyataan: "Awas bahan radioaktif", (6) Informasi bahwa dalam menghitung dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (7) Waktu paro  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  adalah 6,0 jam, (8) Jika injeksi dibuat dari malibdenum 99 yang dihasilkan dari pembelahan uranium harus dicantumkan pada etiket.

## NATRIUM SALISILAT Sodium Salicylate

*natrium-2-salisilat* [54-21-7] BM 160,10

Natrium Salisilat mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5%  $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk mikrohablur atau amorf atau keping, tidak berwarna, atau merah muda lemah; tidak berbau atau bau khas lemah, dan dipengaruhi cahaya. Larutan segar (1 dalam 10) bereaksi netral atau asam terhadap lakmus.

**Kelarutan** Mudah larut secara lambat dalam air dan dalam gliserin; sangat mudah larut dalam air mendidih dan dalam etanol mendidih; larut secara lambat dalam etanol.

**Identifikasi** Larutan (1 dalam 20) menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* dan reaksi *Salisilat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 0,5%.

**Sulfat atau Tiosulfat** Tambahkan 1 ml *asam klorida P* ke dalam larutan 1,0 g dalam 20 ml air, saring tidak lebih dari 0,15 ml *iodum 0,10 N* diperlukan untuk menghasilkan warna kuning pada filtrat.

**Logam berat <371> Metode I** Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 2 g dalam

46 ml air, tambahkan 4 ml *asam klorida 3 N* sambil tetap diaduk, saring, dan gunakan 25 ml filtrat.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 700 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml. Tambahkan 100 ml *asam asetat glasial P*, aduk hingga larut sempurna. Tambahkan *kristal violet LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 16,01 mg  $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## NATRIUM SITRAT Sodium Citrate

$\text{CH}_2(\text{COONa})\text{C}(\text{OH})(\text{COONa})\text{CH}_2\text{COONa}$

*Trinatrium sitrat (anhidrat)* [68-04-2]

$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$  (anhidrat) BM 258,07

Dihidrat [6132-04-3] BM 294,10

Natrium Sitrat berbentuk anhidrat atau mengandung dua molekul air berbentuk hidrat, mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Hablur tidak berwarna atau serbuk putih.

**Kelarutan** Dalam bentuk hidrat mudah larut dalam air; sangat mudah larut dalam air mendidih; tidak larut dalam etanol.

### Identifikasi

A. Larutan (1 dalam 20) menunjukkan reaksi *Natrium* dan *Sitrat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

B. Pada pemijaran, menghasilkan residu alkali yang mengeluarkan gelembung gas bila ditambahkan *asam klorida 3 N*.

**Kebasan** Larutan 1,0 g zat dalam 20 ml air bereaksi basa terhadap *kertas lakmus P*, tambahkan 0,20 ml *asam sulfat 0,1 N*, kemudian tambahkan 1 tetes *fenolftalein LP*: tidak terjadi warna merah muda.

**Air <1031> Metode III** Tidak lebih dari 1,0% untuk bentuk anhidrat; antara 10,0% dan 13,0% untuk bentuk hidrat; lakukan pengeringan pada suhu  $180^\circ$  selama 18 jam.

**Tartrat** Pada larutan 1 g zat dalam 2 ml air, tambahkan 1 ml *kaliium asetat LP* dan 1 ml *asam asetat 6 N*. Gores

dinding tabung dengan batang kaca: tidak terbentuk endapan kristal.

**Logam berat <371> Metode I** Tidak lebih dari 10 bpj. Larutkan sejumlah zat setara dengan 4,4 g natrium sitrat anhidrat dalam 50 ml air sebagai *Larutan persediaan*. Pipet 12 ml *Larutan persediaan* ke dalam tabung Nessler 50 ml (*Larutan uji*). Pipet 11 ml *Larutan persediaan* ke dalam tabung Nessler 50 ml yang berisi 1,0 ml *Larutan baku timbal (Larutan monitor)*. Pipet 1 ml *Larutan baku timbal* dan 11 ml air ke dalam tabung Nessler ketiga (*Larutan baku*). Lanjutkan seperti tertera pada *Prosedur*. Abaikan pengenceran hingga 50 ml.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 350 mg zat yang telah dikeringkan pada suhu 180° selama 18 jam, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml. Tambahkan 100 ml *asam asetat glasial P*, aduk sampai larut sempurna dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko dan koreksi bila perlu.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 8,602 mg C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## NATRIUM TETRABORAT BORAKS

### Sodium Tetraborate

*Boraks* [1303-96-4]  
Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O BM 381,37  
Anhidrat [1330-43-4] BM 201,22

Natrium Tetraborat mengandung sejumlah Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, yang setara dengan tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 105,0% Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O.

**Pemerian** Hablur transparan tidak berwarna atau serbuk hablur putih; tidak berbau. Larutan bersifat basa terhadap fenolftalein. Pada waktu mekar di udara kering dan hangat, hablur sering dilapisi serbuk warna putih.

**Kelarutan** Larut dalam air; mudah larut dalam air mendidih dan dalam gliserin; tidak larut dalam etanol.

**Identifikasi** Larutan (1 dalam 20) memberikan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* dan reaksi *Borat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Karbonat dan Bikarbonat** Ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan 1 ml *asam klorida 3 N*; tidak terbentuk gelembung-gelembung gas.

**Arsen <321>Metode I** Tidak lebih dari 8 bpj.

**Logam berat <371>** Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 1 g dalam campuran 16 ml

air dan 6 ml *asam klorida 1 N*, encerkan dengan air hingga 25 ml.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 3 g zat, larutkan dalam 50 ml air, tambahkan *merah metil LP*, titrasi dengan *asam klorida 1 N LV*. [Catatan Pemanasan di atas tangas uap mungkin diperlukan untuk menambah kelarutan.]

*Tiap ml asam klorida 0,5 N setara dengan 95,34 mg Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## NATRIUM TIOSULFAT Sodium Thiosulfate

*Dinatrium tiosulfat pentahidrat* [10102-17-7] BM 248,19  
Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O  
Anhidrat [7772-98-7] BM 158,11

Natrium Tiosulfat mengandung Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5%, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Hablur besar, tidak berwarna atau serbuk hablur kasar. Mengkilap dalam udara lembab dan mekar dalam udara kering pada suhu lebih dari 33°. Larutan netral atau basa lemah terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

### Identifikasi

A. Pada larutan (1 dalam 10) tambahkan beberapa tetes *iodum LP*: warna hilang.

B. Pada larutan (1 dalam 10) menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B*, reaksi *Tiosulfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Air <1031> Metode III** Antara 32,0% dan 37,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 40° s- 45° selama 16 jam, menggunakan lebih kurang 1,0 g zat yang ditimbang saksama.

**Arsen <321> Metode I** Tidak lebih dari 3 bpj; lakukan penetapan tanpa penambahan 20 ml *asam sulfat 7 N*, menggunakan larutan yang dibuat sebagai berikut: Campur 1,0 g zat dengan 10 ml air dalam labu generator arsin. Tambahkan 15 ml *asam nitrat P* dan 5 ml *asam perklorat P*, campur dan panaskan hati-hati hingga terbentuk asap asam perklorat. Dinginkan, bilas dinding labu dengan air, panaskan lagi hingga terbentuk asap. Dinginkan lagi, bilas dinding labu dan panaskan hingga

terbentuk asap. Dinginkan, encerkan dengan air hingga 52 ml dan tambahkan 3 ml *asam klorida P*.

**Kalsium** Larutkan 1 g zat dalam 20 ml air dan tambahkan beberapa ml *amonium oksalat LP*: tidak terbentuk kekeruhan.

**Logam berat <371>** Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 1 g zat dalam 10 ml air, tambahkan perlahan-lahan 5 ml *asam klorida 3 N*, uapkan di atas tangas uap hingga hampir kering dan panaskan residu pada suhu 150° selama 1 jam. Tambahkan 15 ml air pada residu, didihkan hati-hati selama 2 menit dan saring. Panaskan filtrat hingga mendidih, tambahkan *air brom LP* secukupnya hingga larutannya jernih dan terdapat sedikit kelebihan brom. Didihkan sampai kelebihan brom hilang, dinginkan hingga suhu ruang, tambahkan 1 tetes *fenolftalein LP* dan netralkan dengan *natrium hidroksida 1 N*. Encerkan dengan air hingga 25 ml.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 800 mg zat, larutkan dalam 30 ml air. Jika perlu tambahkan *asam klorida 3 N*, hingga pH antara 6,2 dan 6,7 dan titrasi dengan *iodum 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir.

*Tiap ml iodum 0,1 N  
setara dengan 15,81 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### INJEKSI NATRIUM TIOSULFAT Sodium Thiosulfate Injections

Injeksi Natrium Tiosulfat adalah larutan steril Natrium Tiosulfat dalam *Air untuk Injeksi* yang baru dididihkan. Mengandung Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Endotoksin BPF1*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Memenuhi uji *Identifikasi* seperti tertera pada reaksi *Natrium Tiosulfat*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,03 unit Endotoksin FI per mg natrium tiosulfat.

**pH <1071>** Antara 6,0 dan 9,5.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 1 g natrium tiosulfat,

masukkan ke dalam wadah yang sesuai, atur pH antara 6,2 dan 6,7 menggunakan *asam klorida 3 N*. Encerkan dengan air hingga lebih kurang 20 ml dan titrasi dengan *iodum 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir.

*Tiap ml iodum 0,1 N  
setara dengan 24,82 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal dari kaca Tipe I.

### NEOMISIN SULFAT Neomycin Sulfate

*Neomisin Sulfat* [1405-10-3]

Neomisin Sulfat adalah garam sulfat dari neomisin, zat antibakteri yang dihasilkan oleh pertumbuhan *Streptomyces fradiae* Waksman (Familia *Streptomycetaceae*), atau campuran dari dua atau lebih bentuk garam. Mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 600 µg neomisin per mg, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk; putih sampai agak kuning atau padatan kering mirip es; tidak berbau atau praktis tidak berbau; higroskopik; larutannya memutar bidang polarisasi ke kanan.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sangat sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam aseton, dalam kloroform, dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Neomisin Sulfat BPF1*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 1 µl larutan yang mengandung (1) zat uji 20 mg per ml dan (2) *Neomisin Sulfat BPF1* 20 mg per ml pada lempeng kromatografi silika gel, masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi fase gerak campuran air-amonium hidroksida P-aseton P (71,5:8,5:20) yang dibuat segar dan biarkan merambat sampai lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan kering di udara dan panaskan pada suhu 105° selama 1 jam. Semprot lempeng dengan larutan *ninhidrin P* dalam *butanol P* (1 dalam 100), panaskan pada suhu 105° selama 5 menit, amati kromatogram: harga *R<sub>f</sub>* bercak merah utama yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

B. Larutkan lebih kurang 10 mg zat dalam 1 ml air, tambahkan 5 ml *asam sulfat 15 N* dan panaskan pada suhu 100° selama 100 menit. Biarkan dingin, tambahkan

10 ml *xilen P*, kocok selama 10 menit. Biarkan memisah, dan enaptuangkan lapisan *xilen*. Pada lapisan *xilen* tambahkan 10 ml *p-bromoanilin LP*, kocok: terjadi warna merah muda terang setelah dibiarkan.

C. Larutan (1 dalam 20) menunjukkan reaksi *Sulfat* cara *A, B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 33 mg zat per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 8,0%; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg zat.

**Syarat lain** Neomisin sulfat yang akan digunakan untuk pembuatan salep mata memenuhi syarat *Uji Sterilitas* <71> menurut *Prosedur uji menggunakan penyaringan membran*.

**Penetapan potensi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## NEOMISIN UNTUK INJEKSI

### Neomycin for Injection

Neomisin untuk Injeksi mengandung neomisin sulfat setara dengan neomisin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Neomisin Sulfat BPFi*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Perhatian Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Memenuhi *Identifikasi* seperti tertera pada *Prosedur untuk basitrasin, neomisin, dan polimiksin B* dalam *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

**Endotoksin bakteri** <201> Mengandung tidak lebih 1,30 unit Endotoksin FI per mg neomisin.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Penyaring Membran* dalam *Uji Sterilitas Produk*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *pH* dan *Susut pengeringan* seperti tertera pada *Neomisin Sulfat* dan *Keseragaman sediaan* <911> dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

### Penetapan kadar

*Larutan uji 1* (jika dikemas untuk pembuatan) Konstitusikan neomisin untuk injeksi seperti tertera pada etiket. Ambil semua isi yang dapat diambil, menggunakan jarum hipodermik dan siring yang sesuai, encerkan dengan *Dapar no 3* hingga kadar yang diinginkan.

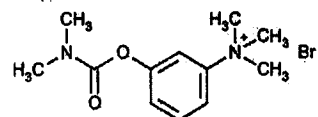
*Larutan uji 2* (jika dikemas untuk pembuatan dan pada etiket tertera jumlah neomisin dalam volume larutan terkonstitusi). Konstitusikan satu wadah neomisin untuk injeksi seperti tertera pada etiket. Pipet sejumlah volume larutan terkonstitusi dan encerkan dengan *Dapar no 3* hingga kadar yang diinginkan.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan potensi antibiotik secara mikrobiologi* <131>, menggunakan sejumlah volume *Larutan uji* yang diukur saksama dan diencerkan secara kuantitatif dengan *Dapar no 3* hingga diperoleh enceran larutan uji dengan kadar yang setara dengan nilai tengah *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

## NEOSTIGMIN BROMIDA

### Neostigmine Bromide



(*m*-Hidroksifenil)trimetilamonium bromida dimetil karbamat [114-80-7]

$C_{12}H_{19}BrN_2O_2$

BM 303,20

Neostigmin Bromida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur tidak berwarna atau serbuk hablur putih; tidak berbau; higroskopis.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam etanol dan dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Neostigmin Bromida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*,

menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Neostigmin Bromida BPFi*.

B. Larutan (1 dalam 50) menunjukkan reaksi *Bromida* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Jarak lebur** <1021> Antara 171° dan 176°, disertai peruraian.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,15%.

**Sulfat** Larutkan 250 mg zat dalam 10 ml air, tambahkan 1 ml *asam klorida 3 N* dan 1 ml *barium klorida LP*; tidak segera terbentuk kekeruhan.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 750 mg zat, larutkan dalam campuran 70 ml *asam asetat glasial P* dan 20 ml *raksa(II) asetat LP*, tambahkan 4 tetes *kristal violet LP*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga berwarna biru. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N  
setara dengan 30,32 mg  $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TABLET NEOSTIGMIN BROMIDA

### Neostigmine Bromide Tablet

Tablet *Neostigmin Bromida* mengandung *Neostigmin Bromida*,  $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ , tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Neostigmin Bromida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 300 mg *neostigmin bromida* ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 10 ml *etanol P*, saring tiap kali ekstraksi. Uapkan kumpulan filtrat dengan aliran *nitrogen P*, hingga kering. Larutkan residu dalam 10 ml air, pindahkan ke dalam corong pisah 125 ml dengan bantuan 5 ml air, ekstraksi dengan 15 ml *eter P* dan lakukan pengujian berikut:

A. Uapkan 3 ml lapisan air di atas tangas uap dengan aliran *nitrogen P* hingga kering. Larutkan residu dalam 1 ml *etanol P*, hangatkan jika perlu. Tambahkan 5 ml *kloroform P*, saring, uapkan filtrat dengan aliran *nitrogen P* hingga kering, dan keringkan residu pada suhu 105° selama 30 menit; spektrum serapan inframerah residu yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada

bilangan gelombang yang sama seperti pada *Neostigmin Bromida BPFi*.

B. Bagian dari lapisan air menunjukkan reaksi *Bromida* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Disolusi** <1231> *Prosedur untuk gabungan sampel*

*Media disolusi*: 500 ml air.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Pada waktu interval tertentu, keluarkan 30 ml alikuot, dan saring. Pipet masing-masing 10 ml dari setiap alikuot, larutan baku *Neostigmin Bromida BPFi* dan air sebagai blangko, ke dalam corong pisah 125 ml. Lakukan penetapan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* mulai dengan "tambahkan 15 ml larutan".

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Neostigmin Bromida BPFi*, larutkan dalam air dan encerkan dengan air secara bertahap hingga kadar lebih kurang 40 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 50 mg *neostigmin bromida*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 50 ml air, kocok secara mekanik selama lebih kurang 30 menit, tambahkan air sampai tanda, kocok dan saring. Pipet 4 ml filtrat yang jernih ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan air sampai tanda.

*Prosedur* Pipet 10 ml *Larutan uji* dan *Larutan baku* masing-masing ke dalam corong pisah 125 ml, tambahkan 15 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 25 mg *heksanitrodifenilamina P* dalam *metilen klorida P* hingga 250 ml, tanpa digerus atau dipanaskan. Kemudian tambahkan 10 ml *natrium hidroksida 5 N*, kocok kuat selama 30 detik. Ekstraksi lapisan air tiga kali, tiap kali dengan 15 ml *metilen klorida P*, kumpulkan lapisan *metilen klorida* dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *metilen klorida P* sampai tanda. Ukur serapan masing-masing larutan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 420 nm, menggunakan *metilen klorida P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg zat, *neostigmin bromida*,  $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$1,25C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Neostigmin Bromida BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## NEOSTIGMIN METILSULFAT

### Neostigmine Methylsulfate

(*m*-Hidroksifenil) trimetilamonium metil sulfat  
dimetilkarbamat [51-60-5]  
 $C_{13}H_{22}N_2O_6S$  BM 334,39

Neostigmin Metilsulfat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{13}H_{22}N_2O_6S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Baku pembanding** *Neostigmin Metilsulfat BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Neostigmin Metilsulfat BPHI*.

B. Masukkan lebih kurang 1 mg zat ke dalam cawan porselen kecil, tambahkan 2 ml air dan 0,5 ml larutan *natrium hidroksida P* (2 dalam 5), uapkan di atas tangas uap hingga kering. Pindahkan residu ke dalam tabung reaksi kecil, panaskan segera di dalam tangas cairan yang sesuai yang sama selama lebih kurang 30 detik. Dinginkan, larutkan residu dalam 0,5 ml air, dinginkan dalam air es dan tambahkan 1 ml *asam diazobenzensulfonat LP*: terjadi warna merah ceri.

C. Campurkan lebih kurang 20 mg zat dengan 500 mg *natrium karbonat P* di dalam krus kecil dan panaskan campuran hingga melebur. Didihkan massa yang telah lebur dengan 10 ml air hingga hancur, dan saring. Tambahkan ke dalam filtrat beberapa tetes *air brom LP*, panaskan hingga mendidih, asamkan dengan *asam klorida P*, dan didihkan untuk menghilangkan kelebihan brom: larutan yang diperoleh menunjukkan reaksi *Sulfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Jarak lebur <1021>** Antara 144° dan 149°; lakukan penetapan terhadap zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 300 mg zat yang ditimbang saksama.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Klorida <361>** Pada 10 ml larutan (1 dalam 50) tambahkan 1 ml *asam nitrat 2 N* dan 1 ml *perak nitrat LP*: tidak segera terjadi opalesensi.

**Ion Sulfat** Pada 10 ml larutan (1 dalam 50) tambahkan 1 ml *asam klorida 3 N* dan 1 ml *barium klorida LP*: tidak segera terbentuk kekeruhan.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu Kjeldahl 500 ml, larutkan dalam 150 ml air, tambahkan 40 ml *natrium hidroksida 2,5 N*. Hubungkan labu dengan alat destilasi dengan kondensor yang bagian ujungnya tercelup dalam 25 ml larutan *asam borat P* (1 dalam 25), destilasi lebih kurang 150 ml, tambahkan *ungu metil LP* ke dalam larutan, dan titrasi dengan *asam sulfat 0,02 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam sulfat 0,02 N  
setara dengan 6,688 mg  $C_{13}H_{22}N_2O_6S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## INJEKSI NEOSTIGMIN METILSULFAT

### Neostigmine Methylsulfate Injections

Injeksi Neostigmin Metilsulfat adalah larutan steril Neostigmin Metilsulfat dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung neostigmin metilsulfat,  $C_{13}H_{22}N_2O_6S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Neostigmin Metilsulfat BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Masukkan sejumlah volume injeksi setara dengan 1 mg neostigmin metilsulfat ke dalam cawan porselen kecil. Jika perlu, uapkan hingga 2 ml, tambahkan 0,5 ml larutan *natrium hidroksida P* (2 dalam 5), lanjutkan seperti tertera pada *Identifikasi B* pada *Neostigmin Metilsulfat*, mulai dari "uapkan di atas tangas uap".

pH <1071> Antara 5,0 dan 6,5.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

#### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Neostigmin Metilsulfat BPHI*, larutkan dalam air dan encerkan secara bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 40 µg per ml.

*Larutan uji* Pipet sejumlah volume injeksi yang diukur saksama setara dengan lebih kurang 2 ml neostigmin metilsulfat ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera dalam *Prosedur* pada *Penetapan kadar* dalam *Tablet Neostigmin Bromida*. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{13}H_{22}N_2O_6S$ , per ml injeksi yang digunakan dengan rumus:

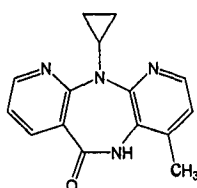
$$0,05 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Neostigmin Metilsulfat BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; V adalah volume dalam ml injeksi yang digunakan;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, terlindung cahaya.

## NEVIRAPIN

### Nevirapine



11-Siklopropil-5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido [3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-on [129618-40-2]  
 $C_{15}H_{14}N_4O$  BM 266,30  
 Hemihidrat BM 275,31

Nevirapin berbentuk anhidrat atau hidrat yang mengandung setengah molekul air. Mengandung tidak kurang dari 98% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{15}H_{14}N_4O$  dihitung sebagai zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur putih atau hampir putih; tidak berbau atau hampir tidak berbau.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam metanol. Bentuk hidrat agak sukar larut dalam propilen glikol.

**Baku Pemanding** *Nevirapin Anhidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Nevirapin Hemihidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPFi*; [5,11-dihidro-6H-11-etil-4-metil-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4] diazepin-6-on] ( $C_{14}H_{14}N_4O$  BM 254,29) tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis B Nevirapin BPFi*; [5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4] diazepin-6-on] ( $C_{12}H_{10}N_4O$  BM 226,23) tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Nevirapin BPFi*.

B. Waktu retensi relatif puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 0,2% untuk nevirapin anhidrat; untuk nevirapin hemihidrat antara 3,1% dan 3,9%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Cemaran spesifik atau tidak spesifik** Senyawa sejenis A nevirapin, senyawa sejenis B nevirapin dan senyawa sejenis C nevirapin masing-masing tidak lebih dari 0,2%; cemaran tidak spesifik lainnya tidak lebih dari 0,1%; total cemaran tidak lebih dari 0,6%.

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar amonium fosfat 0,025 M, Fase gerak, Larutan baku persediaan 1, Larutan baku persediaan 2, Larutan baku persediaan 3, dan Larutan Resolusi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Pipet 2 ml *Larutan baku persediaan 1* ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat setara dengan lebih kurang 24 mg nevirapin anhidrat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 4 ml *asetonitril P* dan 80 ml *Fase gerak*, sonikasi tidak kurang dari 15 menit. Biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi* (lebih kurang 25 µl), rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis B nevirapin, nevirapin, senyawa sejenis A nevirapin, cemaran C nevirapin, berturut-turut adalah lebih kurang 0,7; 1,0; 1,5 dan 2,8; resolusi, R, antara senyawa sejenis B nevirapin dan nevirapin tidak kurang dari 5,0 dan resolusi, R, antara nevirapin dan senyawa sejenis A nevirapin tidak kurang dari 7,4. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram selama tidak kurang dari 80 menit dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$10.000 \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$



$r_1$  adalah faktor respons relatif untuk masing-masing cemaran; 1,3 untuk senyawa sejenis B nevirapin dan 1,0 untuk semua cemaran lainnya;  $C$  adalah kadar *Nevirapin Anhidrat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $W$  adalah bobot nevirapin dalam mg yang digunakan dalam *Larutan uji*;  $r_1$  adalah respons puncak untuk masing-masing cemaran dalam *Larutan uji*;  $r_s$  adalah respons puncak nevirapin dalam *Larutan baku*.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode V** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Dapar amonium fosfat 0,025 M** Timbang 2,88 g amonium fosfat monobasa  $P$ , masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dalam 800 ml air. Atur pH hingga lebih kurang 5,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*, larutkan dan encerkan dengan air sampai anda.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar amonium fosfat 0,025 M-asetonitril P (4:1)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku persediaan 1** Timbang saksama sejumlah *Nevirapin Anhidrat BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, tambahkan sejumlah volume campuran *Fase gerak-asetonitril P (20:1)*, sonikasi selama lebih kurang 15 menit, biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,24 mg per ml. [Catatan Jangan digunakan lebih dari 78 jam.]

**Larutan baku persediaan 2** Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, tambahkan sejumlah volume campuran *Fase gerak-asetonitril P (3:1)*, sonikasi selama lebih kurang 15 menit, biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,24 mg per ml.

**Larutan baku persediaan 3** Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis B Nevirapin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, tambahkan sejumlah volume campuran *Fase gerak-asetonitril P (2,2:1)*, sonikasi selama lebih kurang 30 menit, biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,06 mg per ml.

**Larutan resolusi** Pipet 3 ml *Larutan baku persediaan 1*, 3 ml *Larutan baku persediaan 2* dan 6 ml *Larutan baku persediaan 3* ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Larutan baku** Pipet 3 ml *Larutan baku persediaan 1* ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda [Catatan Jangan digunakan lebih dari 78 jam].

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah zat setara dengan lebih kurang 24 mg nevirapin anhidrat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 4 ml *asetonitril P* dan 80 ml *Fase gerak*, sonikasi selama tidak

kurang dari 15 menit, biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 3 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L60* dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada 35°. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi* (lebih kurang 25  $\mu$ l) dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis B nevirapin, nevirapin, senyawa sejenis A nevirapin dan cemaran C nevirapin berturut-turut lebih kurang 0,7; 1,0; 1,5; dan 2,8; resolusi,  $R$ , antara senyawa sejenis B nevirapin dan nevirapin tidak kurang dari 5,0 dan resolusi,  $R$ , antara nevirapin dan senyawa sejenis A nevirapin tidak kurang dari 7,4. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nevirapin,  $C_{15}H_{14}N_4O$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$833,33C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Nevirapin Anhidrat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat pada suhu 25°, masih diperbolehkan pada suhu antara 15° dan 30°.

**Penandaan** Etiket menyatakan anhidrat atau hemihidrat.

## SUSPENSI ORAL NEVIRAPIN

### Nevirapine Oral Suspension

Suspensi Oral Nevirapin mengandung nevirapin,  $C_{15}H_{14}N_4O$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket

**Baku pembanding** *Nevirapin Anhidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Nevirapin Hemihidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPFi*, [5,11-dihidro-6H-11-etil-4-metil-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4] diazepin-6-on] ( $C_{14}H_{14}N_4O$  BM 254,29); tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis B Nevirapin BPFi*, [5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e] 1,4]

diazepin-6-on] ( $C_{12}H_{10}N_4O$  BM 226,23); tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Lakukan Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>.

Fase gerak Campuran etil asetat P-isopropanol P-amonium hidroksida pekat P (18:2:0,1).

Pereaksi besi(III) klorida-kalium besi(III) sianida Larutkan lebih kurang 1,35 g besi(III) klorida P dalam 25 ml air. Larutkan lebih kurang 1,64 g kalium besi(III) sianida P dalam 25 ml air. Campur kedua larutan segera sebelum digunakan.

Larutan baku Timbang sejumlah Nevirapin Anhidrat BPF1, larutkan dan encerkan dalam kloroform P hingga kadar lebih kurang 5 mg per ml.

Larutan uji Pipet sejumlah volume suspensi oral setara dengan lebih kurang 10 mg nevirapin ke dalam tabung bersumbat kaca 8 ml. Pipet 2 ml kloroform P ke dalam tabung dan kocok, biarkan lapisan memisah. Pindahkan lapisan bawah menggunakan pipet kaca Pasteur sekali pakai dan masukkan ke dalam wadah yang lain.

Prosedur Totolkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5  $\mu$ l) Larutan uji dan Larutan baku pada lempeng kromatografi lapis tipis yang dilapisi silika gel 60 F<sub>254</sub> setebal 0,25 mm. Biarkan bercak mengering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan Fase gerak, eluasi hingga Fase gerak merambat lebih kurang 6 - 7 cm dari garis penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering. Amati bercak di bawah cahaya ultraviolet 254 nm dan tandai bercak. Semprot lempeng dengan penampak bercak Pereaksi besi(III) klorida-kalium besi(III) sianida. Harga R<sub>f</sub> bercak utama berwarna biru (lebih kurang 0,4-0,5) yang diperoleh dari Larutan uji sesuai dengan Larutan baku.

B. Waktu retensi relatif puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada Penetapan kadar.

**Batas mikroba <51>** Total mikroba aerobik tidak lebih dari 100 cfu per ml dan total campuran jamur dan ragi tidak lebih dari 50 cfu per ml. Memenuhi syarat uji bebas *Escherichia coli*.

### Disolusi <1231>

Media disolusi: 900 ml asam klorida 0,1 N

Alat tipe 2: 25 rpm

Waktu: 45 menit

Prosedur Lakukan penetapan jumlah  $C_{15}H_{14}N_4O$  yang terlarut dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Pengencer Campuran etanol mutlak P-air (1:1).

Fase gerak Buat campuran air-asetonitril P (77:23), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan kesesuaian sistem Timbang lebih kurang 10 mg Nevirapin Anhidrat BPF1 dan 15 mg metil paraben P ke dalam labu tentukur 250-ml. Larutkan

dalam lebih kurang 2 ml Pengencer dan encerkan dengan Media disolusi sampai tanda.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 28 mg Nevirapin Anhidrat BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml. Tambahkan 2 ml Pengencer dan sonikasi lebih kurang 1 menit. [Catatan Pada kondisi ini zat belum terlarut sempurna.] Encerkan dengan Media disolusi sampai tanda dan amati larutan secara visual untuk memastikan zat terlarut sempurna. Kadar larutan lebih kurang 56  $\mu$ g per ml nevirapin.

Larutan uji Kocok perlahan botol dengan membolak-balikkan dari sisi ke sisi selama lebih kurang 10 detik. Zat uji harus bebas gelembung udara dan tidak boleh disonikasi. Gunakan pipet yang sesuai dengan rentang volume 1-10 ml, pipet 5 ml zat yang setara dengan lebih kurang 50 mg nevirapin. Bersihkan kelebihan suspensi oral yang menempel pada bagian luar ujung pipet dengan hati-hati, sehingga tidak menyentuh lubang pipet. Masukkan ke dalam labu disolusi dalam waktu 1-2 detik dengan cara memasukkan ujung pipet di antara dayung dan sisi labu disolusi, kira-kira 1 cm di bawah permukaan media disolusi. Dengan cara yang sama, masukkan zat ke dalam labu disolusi yang lain. Setelah 45 menit, ambil 5 ml larutan dari masing-masing labu disolusi, saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45  $\mu$ m, buang 2 ml filtrat pertama.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 214 nm, kolom pelindung 3,9 mm x 20 mm, berisi bahan pengisi L1 dan kolom 15 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara nevirapin dan metil paraben tidak kurang dari 5,0 dan faktor ikutan untuk puncak nevirapin tidak lebih dari 1,8. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram selama tidak kurang dari 14 menit dan ukur respons puncak nevirapin. Hitung persentase  $C_{15}H_{14}N_4O$ , yang terlarut dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) \left( \frac{900}{V} \right)$$

$C_s$  adalah kadar Nevirapin Anhidrat BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $C$  adalah kadar dalam mg per ml suspensi oral yang tertera pada etiket;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku; 900 adalah volume dalam ml Media disolusi;  $V$  adalah volume dalam ml suspensi oral yang digunakan dan 100 adalah faktor konversi ke persen.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{15}H_{14}N_4O$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran yang tidak diketahui tidak lebih dari 0,1% dan total cemaran yang diperoleh tidak lebih dari 0,2%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Dapar kalium fosfat, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Pengencer, Larutan kesesuaian sistem, dan Larutan baku persediaan, Penetapan bobot dan Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Larutan baku** Encerkan secara kuantitatif *Larutan baku persediaan* dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,3 µg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 10,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak.

Hitung persentase masing-masing cemaran yang tidak diketahui dalam suspensi oral, dengan rumus:

$$200 \left( \frac{C}{W_u} \right) \left( \frac{W_A}{5} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right) \left( \frac{100}{L} \right)$$

*C* adalah kadar *Nevirapin Anhidrat BPF* dalam mg per ml *Larutan baku*; *W<sub>u</sub>* adalah bobot dalam g suspensi oral yang digunakan dalam *Larutan uji*; *W<sub>A</sub>* adalah bobot dalam g per 5 ml suspensi oral yang diperoleh seperti tertera pada *Penetapan bobot*; *L* adalah jumlah mg per ml suspensi oral nevirapin seperti tertera pada etiket; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dalam *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak nevirapin dalam *Larutan baku*. [Catatan Bahan tambahan dan hasil degradasi produk tidak termasuk dalam penetapan cemaran.]

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Pengencer** Campuran air-metanol P (80:20).

**Dapar kalium fosfat** Larutkan 13,6 g kalium fosfat monobasa P ke dalam lebih kurang 1900 ml air, atur pH hingga 3,0 dengan penambahan asam fosfat P. Pindahkan ke dalam labu tentukur 2000-ml dan encerkan dengan air sampai tanda. Saring dan awadarakan.

**Larutan A** Campuran *Dapar kalium fosfat-asetonitril P* (97:3).

**Larutan B** Campuran *Dapar kalium fosfat-asetonitril P* (76:24).

**Fase gerak** Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan baku persediaan** Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Nevirapin Anhidrat BPF*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Tambahkan 20 ml *metanol P*, sonikasi dengan sesekali diaduk sampai larut. Tambahkan air sampai lebih kurang 1 cm di bawah permukaan, biarkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan baku** Encerkan secara kuantitatif *Larutan baku persediaan* dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,3 mg per ml.

**Larutan cemaran persediaan** Timbang saksama lebih kurang masing-masing 3 mg *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPF* dan *Senyawa Sejenis B Nevirapin BPF*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20 ml *metanol P*, sonikasi sampai larut. Tambahkan air sampai lebih kurang 1 cm di bawah permukaan, biarkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan kesesuaian sistem** Pipet 15 ml *Larutan baku persediaan* dan 2 ml *Larutan cemaran persediaan* ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

**Penetapan bobot** Gunakan pipet yang sesuai dengan rentang volume 1 - 10 ml, pipet sebanyak 5 ml, zat uji harus bebas dari gelembung udara. Masukkan ke dalam vial yang sudah ditara, dan catat bobot suspensi oral hingga lebih kurang 0,1 mg.

**Larutan uji** Gunakan pipet yang sesuai dengan rentang volume 1-10 ml, ambil zat uji setara dengan lebih kurang 60 mg nevirapin, harus bebas dari gelembung udara. Bersihkan kelebihan zat uji yang menempel pada bagian luar ujung pipet dengan hati-hati, sehingga tidak menyentuh lubang ujung pipet. Masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml yang sudah ditara. Catat bobot contoh mendekati ±0,1 mg. Tambahkan 40 ml *metanol P* dan sonikasi selama lebih kurang 5 menit dengan sesekali diaduk. Tambahkan air hingga lebih kurang 1 cm di bawah permukaan. Labu tidak boleh dikocok. Biarkan hingga mencapai suhu ruang dan encerkan dengan air sampai tanda. Kocok labu perlahan-lahan dan biarkan selama lebih kurang 5 menit.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom pelindung 12,5 mm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L10 dengan ukuran partikel 5 µm dan kolom analitik 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L10 dengan ukuran partikel 3,5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit dan pertahankan suhu kolom pada 35°. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-1	100	0	Isokratik
1-31	100 → 0	0 → 100	Gradien linier
31-32	0 → 100	100 → 0	Gradien linier
32-42	100	0	Kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara

nevirapin dan senyawa sejenis A nevirapin tidak kurang dari 3,0; resolusi, R, antara nevirapin dan senyawa sejenis B nevirapin tidak kurang dari 1,7; dan faktor ikutan dari puncak nevirapin tidak lebih dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, nevirapin, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O, dalam tiap ml suspensi oral dengan rumus:

$$200 \left( \frac{C}{W_U} \right) \left( \frac{W_A}{5} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Nevirapin Anhidrat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; W<sub>U</sub> adalah bobot dalam g suspensi oral yang digunakan dalam *Larutan uji*; W<sub>A</sub> adalah bobot dalam g per 5 ml suspensi oral yang diperoleh seperti tertera pada *Penetapan bobot*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan pada suhu antara 15° dan 30°.

### TABLET NEVIRAPIN Nevirapine Tablet

Tablet Nevirapin mengandung Nevirapin, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0 % dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Nevirapin Anhidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Nevirapin Hemihidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPFi*, [5,11-dihidro-6H-11-etil-4-metil-dipirido [3,2-b:2',3'-e][1,4] diazepin-6-on] (C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O BM 254,29); tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis B Nevirapin BPFi*, [5,11-dihidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4] diazepin-6-on] (C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O BM 226,23); tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Masukkan sejumlah serbuk tablet setara dengan 25 mg nevirapin ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dalam 10 ml *diklorometan P*. Goyang larutan selama 30 - 60 detik. Saring melalui penyaring kaca masir hampa udara. Dengan menggunakan sebuah siring kaca lewatkan filtrat melalui penyaring teflon 0,45 µm. Keringkan ekstrak pada suhu 105° selama tidak kurang dari 1 jam. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya

pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Nevirapin BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml *Dapar fosfat 0,1 M* pH 2,0; yang dibuat dengan mencampur 3,9 ml *asam fosfat pekat P* dengan 5,73 g *natrium fosfat monobasa P* dalam labu tentukur 1000-ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Jika perlu atur pH hingga 2,0±0,02 dengan penambahan *asam fosfat P*.

*Alat tipe 2*: 50 rpm, gunakan hanya dayung yang terbuat dari baja tahan karat, jangan menggunakan dayung yang dilapisi politetrafluoroetilen.

*Waktu*: 60 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Pengencer* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku persediaan 1* Timbang saksama lebih kurang 27 mg *Nevirapin Anhidrat BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml. Tambahkan 50 ml *etanol P* dan 250 ml *Media disolusi*. Sonikasi selama lebih kurang 20 menit hingga larut, biarkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

*Larutan baku persediaan 2* Timbang saksama lebih kurang 7 mg *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml. Tambahkan 2 ml *Pengencer*, sonikasi hingga larut sempurna dan encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 25 ml *Larutan baku persediaan 1* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Pipet 25 ml *Larutan baku persediaan 1* ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda. Pipet 25 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml kedua, encerkan dengan *Larutan baku persediaan 2* sampai tanda.

*Larutan uji* Lewatkan 20 ml alikuot melalui penyaring nilon atau serat kaca dengan porositas 0,45 µm dan encerkan dengan *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 13,5 µg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Lakukan penetapan persentase nevirapin, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O terlarut dengan rumus:

$$900 \left( \frac{W_S}{LC} \right) \left( \frac{D_S}{D_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) 100$$

900 adalah volume dalam ml *Media disolusi*; W<sub>S</sub> adalah jumlah dalam mg *Nevirapin Anhidrat BPFi* yang digunakan; LC adalah jumlah dalam mg tablet yang tertera pada etiket; D<sub>S</sub> adalah faktor disolusi pada *Larutan baku*; D<sub>U</sub> adalah faktor disolusi dalam *Larutan uji*; r<sub>U</sub> dan

$r_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*; 100 adalah faktor konversi ke persen.

**Toleransi** Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{15}H_{14}N_4O$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran atau hasil degradasi yang tidak diketahui tidak lebih dari 0,1% dan total cemaran atau hasil degradasi yang tidak diketahui tidak lebih dari 0,2%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak, Pengencer, Larutan resolusi, Larutan baku persediaan 1, Larutan baku persediaan 2 dan Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Larutan baku** Encerkan secara kuantitatif *Larutan baku persediaan 1* dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,125  $\mu\text{g}$  per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* kecuali simpangan baku relatif untuk penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 5,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram selama tidak kurang dari 13 menit dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran atau hasil degradasi dalam serbuk tablet dengan rumus:

$$8000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{A}{L} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right) 100$$

$C$  adalah kadar *Nevirapin Anhidrat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $W$  adalah bobot dalam mg serbuk tablet yang digunakan dalam *Larutan uji*;  $A$  adalah bobot rata-rata tablet dalam mg;  $L$  adalah jumlah mg nevirapin dalam tablet yang tertera pada etiket;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran atau hasil degradasi yang diperoleh dari *Larutan uji*;  $r_s$  adalah respons puncak nevirapin dalam *Larutan baku*. Abaikan semua puncak pelarut atau bahan tambahan dan puncak cemaran yang lebih kecil dari 0,1%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril P (77:23), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Pengencer** Campuran etanol mutlak P-air (1:1).

**Larutan baku persediaan 1** Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Nevirapin Anhidrat BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

**Larutan baku persediaan 2** Timbang saksama lebih kurang 5 mg *Senyawa Sejenis A Nevirapin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

**Larutan baku Pipet 25 ml Larutan baku persediaan 1** ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Kadar larutan lebih kurang 25  $\mu\text{g}$  per ml.

**Larutan resolusi Pipet 25 ml Larutan baku persediaan 1 dan 25 ml Larutan baku persediaan 2** ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet, timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 200 mg nevirapin, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml. Tambahkan lebih kurang 150 ml *Pengencer*. Sonikasi lebih kurang 20 menit, dan kocok lebih kurang 20 menit. Biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Sentrifus larutan dengan kecepatan lebih kurang 1500 rpm selama lebih kurang 5 menit. Pipet 5 ml beningan ke dalam labu tentukur 200-ml kedua dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Saring dan buang 2 ml filtrat pertama.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 214 nm dan kolom 15 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1. Pertahankan suhu kolom pada suhu ruang, laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara nevirapin dan senyawa sejenis A nevirapin tidak kurang dari 3,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: simpangan baku relatif* pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

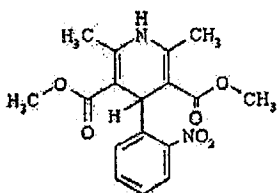
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nevirapin,  $C_{15}H_{14}N_4O$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$8000 C \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Nevirapin Anhidrat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, pada suhu 25°, masih diperbolehkan pada suhu antara 15° dan 30°.

## NIFEDIPIN Nifedipine



Dimetil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(o-nitrofenil)-3,5-piridindikarboksilat [21829-25-4]

$C_{17}H_{18}N_2O_6$

BM 346,33

Nifedipin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk; kuning; terurai oleh cahaya langsung.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam aseton.

**Baku pembanding** *Nifedipin BPF*; simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Turunan Nifedipin Nitrofenilpiridin BPF*, *Turunan Nifedipin Nitrosofenilpiridin BPF*.

[Catatan *Nifedipin* langsung terurai menjadi turunan nitrosofenilpiridin oleh cahaya biasa dan cahaya buatan pada panjang gelombang tertentu. Cahaya ultraviolet sangat berpengaruh dalam pembentukan turunan nitrofenilpiridin. Lakukan penetapan kadar dan semua pengujian di tempat gelap atau berfluoresensi keemasan atau cahaya aktinik rendah. Gunakan alat kaca aktinik rendah.]

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang tidak dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida *P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Nifedipin BPF*.

B. Ke dalam labu tentukur 10-ml yang berisi 14 mg nifedipin tambahkan 1,0 ml kloroform *P* dan encerkan dengan metanol *P* sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan metanol *P* sampai tanda, gunakan sebagai Larutan uji. Ukur serapan Larutan uji pada panjang gelombang dari 450 - 200 nm menggunakan blangko metanol *P*. Spektrum serapan Larutan uji menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang utama yang sama seperti pada larutan *Nifedipin BPF* yang diperlakukan sama.

C. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Jarak lebur** <1021> Metode III Antara 171° dan 175°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam, menggunakan 1 g zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%; lakukan pemijaran pada suhu 600°.

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 20 bpj.

**Titrasi asam perklorat** Timbang saksama lebih kurang 4 g zat, masukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml, larutkan dalam 160 ml asam asetat glasial *P* dengan tangas ultrasonik. Tambahkan 3 tetes *p*-naftolbenzein *LP* dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 *N LV* sampai titik akhir warna hijau: tidak lebih dari 0,12 ml asam perklorat 0,1 *N* yang diperlukan untuk tiap gram nifedipin.

**Klorida dan sulfat** Pada 5,0 g zat dalam gelas piala 140 ml, tambahkan 4,0 asam asetat 6 *N* dan 46 ml air, didihkan hati-hati di atas lempeng panas, dinginkan dan saring melalui kertas bebas klorida dan sulfat. Gunakan filtrat nifedipin untuk uji berikut.

**Klorida** Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan sebagai berikut: Pipet 2,5 ml filtrat nifedipin, masukkan ke dalam tabung pembanding warna, tambahkan 12,5 ml air. Pipet 10 ml larutan baku yang berisi 8,2 µg natrium klorida *P* per ml setara dengan 5 µg klorida per ml, masukkan ke dalam tabung pembanding warna yang lain, tambahkan 5,0 ml air. Ke dalam tiap tabung tambahkan 0,15 ml asam nitrat 0,3 *M* dan 0,3 ml perak nitrat *LP*. Opalesensi filtrat nifedipin yang terjadi tidak lebih kuat dari opalesensi larutan baku.

**Sulfat** Tidak lebih dari 0,05%; lakukan penetapan sebagai berikut: Pipet 1,5 ml larutan sulfat yang berisi kalium sulfat secukupnya dalam air dengan kadar sulfat 10 µg per ml masing-masing ke dalam 2 tabung pembanding warna, tambahkan berturut-turut ke dalam masing-masing tabung sambil dikocok terus-menerus 0,75 ml etanol *P*; 0,5 ml larutan barium klorida *P* 6,1% dan 0,25 ml asam asetat 6 *N*, kocok kembali selama 30 detik. Pipet 15 ml larutan sulfat ke dalam tabung I yang diberi tanda baku. Pipet 3 ml filtrat nifedipin dan 12 ml air ke dalam tabung II yang diberi tanda contoh. Kekeruhan yang terjadi pada tabung contoh tidak lebih kuat dari tabung baku.

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 0,2% untuk masing-masing dimetil 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetilpiridin-3,5-dikarboksilat dan dimetil-4-(2-nitrosofenil)-2,6-dimetilpiridin-3,5-dikarboksilat, yang dikandung oleh masing-masing turunan nifedipin nitrofenilpiridin dan turunan nifedipin nitrosofenilpiridin. [Catatan Hindarkan Larutan baku dan Larutan uji dari cahaya aktinik, lakukan pengujian segera setelah Larutan baku dan Larutan uji disiapkan.]

Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak dan Larutan uji* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku nifedipin* Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *metanol P* (hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml), encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,3 mg per ml.

*Larutan pembanding A* Timbang saksama sejumlah turunan *Nifedipin Nitrofenilpiridin BPFi*, larutkan dalam *metanol P* (hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml), encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,6 µg per ml.

*Larutan pembanding B* Timbang saksama sejumlah turunan *Nifedipin Nitrosfenilpiridin BPFi*, larutkan dalam *metanol P* (hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml), encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,6 µg per ml.

*Larutan baku* Pipet 5 ml *Larutan pembanding A*, *Larutan pembanding B*, ke dalam wadah, tambahkan 5,0 ml *Fase gerak*.

*Larutan kesesuaian sistem* Campur dengan volume sama *Larutan baku nifedipin*, *Larutan pembanding A* dan *Larutan pembanding B*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak analog nitrofenilpiridin dan nitrosfenilpiridin tidak kurang dari 1,5; resolusi,  $R$ , antara turunan nitrosfenilpiridin dan nifedipin tidak kurang dari 1,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10%. Waktu retensi relatif turunan nitrofenilpiridin, turunan nitrosfenilpiridin dan nifedipin berturut-turut adalah lebih kurang 0,8; 0,9 dan 1,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tiap senyawa sejenis dalam nifedipin yang digunakan dengan rumus:

$$250C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Turunan Nifedipin BPFi* yang sesuai dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** [Catatan Hindarkan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dari cahaya aktinik, lakukan pengujian segera setelah *Larutan baku* dan *Larutan uji* disiapkan.] Lakukan penetapan secara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril *P-metanol P* (50:25:25), dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *metanol P* (hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml), encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg nifedipin, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dalam 25 ml *metanol P*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 235 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 4.000 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$250C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Nifedipin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat.

## KAPSUL NIFEDIPIN Nifedipine Capsule

Kapsul Nifedipin mengandung Nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Nifedipin BPFi*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, hindari pemaparan cahaya dan perlakukan dengan hati-hati. *Turunan Nifedipin Nitrofenilpiridin BPFi*, *Turunan Nifedipin Nitrosfenilpiridin BPFi*. [Catatan *Nifedipin* langsung terurai menjadi turunan nitrosfenilpiridin oleh cahaya biasa dan cahaya pada panjang gelombang tertentu. Cahaya ultraviolet sangat berpengaruh dalam pembentukan turunan nitrofenilpiridin. Lakukan penetapan kadar dan semua pengujian di tempat gelap atau berfluoresensi keemasan atau cahaya aktinik rendah. Gunakan alat kaca aktinik rendah.]

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak Campuran etil asetat P -sikloheksan P (1:1).*

*Penjerap Campuran silika gel P setebal 0,5 mm.*

*Penampak bercak* Timbang berturut-turut 3 g *bismut subnitrat P* dan 30 g *natrium iodida P*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml *asam klorida 3 N*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan baku* Larutkan sejumlah *Nifedipin BPFi* dalam *diklormetan P* hingga kadar lebih kurang 1,2 mg per ml.

*Larutan uji* Lubangi pangkal dari 3 kapsul dengan gunting, keluarkan semua isi kapsul masukkan ke dalam tabung sentrifuga, bilas gunting dengan lebih kurang 20 ml *natrium hidoksida 0,1 N*. Pipet 25 ml *diklormetan P* ke dalam tabung, tutup dan balikkan beberapa kali dan buang tekanan dalam tabung secara hati-hati. Tutup kembali tabung kemudian kocok hati-hati selama 1 jam. Sentrifus tabung selama 10 menit pada kecepatan 2000 - 2500 rpm. Keluarkan beningan dengan aspirasi menggunakan siring dan pipet 5 ml lapisan paling bawah ke dalam vial yang sesuai.

*Prosedur* Campur volume sama *Larutan baku* dan *Larutan uji*. Totolkan dalam bentuk pita secara terpisah masing-masing 500 µl *Larutan baku*, *Larutan uji*, dan campuran *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,5 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang terlindung cahaya dan telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*. Biarkan merambat hingga tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan di udara sampai tidak berbau. Segera amati pita di bawah cahaya UV 254 nm. Bercak utama berbentuk pita warna biru gelap. Harga  $R_f$  pita *Larutan uji*, *Larutan baku*, dan campuran *Larutan baku* dan *Larutan uji* masing-masing lebih kurang 0,3. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak*: masing-masing larutan memberikan pita kompak jingga muda dengan latar belakang kuning.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml cairan lambung buatan LP (tanpa pepsin).

*Alat tipe 2*: 50 rpm

*Waktu*: 20 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut dengan mengukur serapan filtrat alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Nifedipin BPFi* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 340 nm. Dapat digunakan *metanol P* tidak lebih dari 1% volume total untuk melarutkan baku perbandingan sebelum diencerkan dengan media disolusi. [Catatan *Penyaring harus diperiksa terhadap adanya nifedipin yang terserap.*]

*Toleransi* Dalam waktu 20 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

*Prosedur keseragaman kandungan*

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 50 µg per ml.

*Larutan uji* Lubangi pangkal kapsul dengan gunting. Keluarkan isi kapsul ke dalam labu tentukur 200-ml, potong kapsul menjadi 2. Bilas gunting dan potongan kapsul dengan lebih kurang 20 ml *metanol P*, kumpulkan bilasan secara kuantitatif ke dalam labu tentukur di atas. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam sel-1 cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 350 nm, menggunakan *metanol P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , dalam tiap kapsul dengan rumus:

$$C \left( \frac{T}{D} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Nifedipin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; T adalah jumlah dalam mg nifedipin dalam kapsul seperti tertera pada etiket; D adalah kadar nifedipin dalam µg per ml *Larutan uji* berdasarkan yang tertera pada etiket;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Senyawa sejenis** Dimetil 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetilpiridin-3,5-dikarboksilat, yang sesuai dengan turunan nifedipin nitrofenilpiridin tidak lebih dari 2% dan dimetil 4-(2-nitrosifenil)-2,6-dimetilpiridin-3,5-dikarboksilat yang sesuai dengan turunan nifedipin nitrosifenilpiridin tidak lebih dari 0,5% relatif terhadap kadar nifedipin. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan *Larutan baku nifedipin dan Larutan uji terlindung cahaya aktinik. Segera lakukan pengujian terhadap Larutan baku nifedipin dan Larutan uji.*]

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Nifedipin*.

*Larutan baku nifedipin* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis dalam Nifedipin*.

*Larutan baku 1* Lakukan seperti *Larutan perbandingan A* yang tertera pada *Senyawa sejenis dalam Nifedipin*, kecuali untuk pembuatan kadar akhir lebih kurang 6 µg per ml.

*Larutan baku 2* Lakukan seperti *Larutan perbandingan B* yang tertera pada *Senyawa sejenis dalam Nifedipin*, kecuali untuk pembuatan kadar akhir lebih kurang 1,5 µg per ml.



Larutan baku Pipet masing-masing 5 ml Larutan baku 1 dan Larutan baku 2 ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Larutan uji Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan kesesuaian sistem Campur sejumlah volume sama Larutan baku nifedipin, Larutan baku 1 dan Larutan baku 2.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi,  $R$ , antara puncak turunan nitrofenilpiridin dan turunan nitrosfenilpiridin tidak kurang dari 1,5; resolusi,  $R$ , antara puncak turunan nitrosfenilpiridin dan nifedipin tidak kurang dari 1,0; dan simpangan baku relatif yang ditetapkan dari respons setiap turunan pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10%. Waktu retensi relatif untuk turunan nitrofenilpiridin, turunan nitrosfenilpiridin dan nifedipin berturut-turut lebih kurang 0,8; 0,9 dan 1,0.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25  $\mu$ l) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg masing-masing senyawa sejenis dalam tiap kapsul dengan rumus:

$$C \left( \frac{V}{5} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar turunan Nifedipin BPFi yang sesuai dalam mg per ml Larutan baku;  $V$  adalah volume dalam ml Larutan uji;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis yang sesuai dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931> [Catatan Lindungi Larutan baku dan Larutan uji dari cahaya aktinik. Lakukan Penetapan kadar segera setelah penyiapan Larutan baku dan Larutan uji].

Fase gerak dan Larutan baku Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Nifedipin.

Larutan uji Pindahkan seluruh isi 5 kapsul dengan bantuan sedikit metanol P ke dalam labu tentukur, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan Fase gerak hingga kadar nifedipin lebih kurang 0,1 mg per ml. Saring melalui penyaring tahan pelarut.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1, dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m dan kolom pelindung berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom tidak kurang dari 4000 lempeng teoritis; faktor

ikutan tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25  $\mu$ l) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , dalam tiap kapsul dengan rumus:

$$C \left( \frac{V}{5} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar Nifedipin BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $V$  adalah volume dalam ml Larutan uji;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya pada suhu antara 15° dan 25°.

### TABLET LEPAS LAMBAT NIFEDIPIN Nifedipine Extended-Release Tablet

Tablet Lepas Lambat Nifedipin mengandung nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Nifedipin BPFi**; Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, hindari pemaparan cahaya dan perlakukan dengan hati-hati. Turunan Nifedipin Nitrofenilpiridin BPFi, Turunan Nifedipin Nitrosfenilpiridin BPFi.

[Catatan Nifedipin langsung terurai menjadi turunan nitrosfenilpiridin oleh cahaya biasa dan cahaya buatan pada panjang gelombang tertentu. Cahaya ultraviolet sangat berpengaruh dalam pembentukan turunan nitrofenilpiridin. Lakukan Penetapan kadar dan semua pengujian di tempat gelap atau berfluoresensi keemasan atau cahaya aktinik rendah. Gunakan alat kaca aktinik rendah.]

#### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada Penetapan kadar.

B. Larutan uji dan Larutan baku; memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang yang sama.

Larutan uji Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar, kecuali pengenceran lebih lanjut dengan Fase gerak hingga kadar lebih kurang 0,02 mg per ml.

Larutan baku Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Nifedipin, kecuali pengenceran lebih lanjut dengan Fase gerak hingga kadar lebih kurang 0,02 mg per ml.

Prosedur Ukur serapan Larutan uji dan Larutan baku; memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang yang sama.

**Disolusi <1231> Uji 1** Jika sediaan memenuhi uji ini, pada etiket harus mencantumkan memenuhi syarat *Uji 1 Disolusi FI*.

*Media disolusi:* 50 ml air

*Alat tipe 7* Lakukan seperti tertera pada *Pelepasan obat <961>*: Antara 15 dan 30 rpm. Jangan gunakan cakram, tapi gunakan tangkai gelas pleksi 25 cm, sisi tablet ditempelkan pada tangkai dengan bantuan lem tidak larut air. Wadah larutan adalah tabung uji dengan panjang 150 - 200 mm dan pertahankan suhu tangas air pada  $37 \pm 0,5^\circ$ . Pada akhir setiap interval uji, sistem dipindahkan ke deret berikutnya berupa tabung uji baru berisi 50 ml *Media disolusi* segar.

*Waktu:* 4, 8, 12, 16, 20 dan 24 jam.

*Pengencer* Campuran *metanol P*-air (1:1).

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Nifedipin BPLI*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 50 ml *metanol P*, encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan secara kuantitatif larutan dengan *Pengencer* hingga kadar mendekati *Larutan uji*.

*Larutan uji* Gunakan sejumlah alikuot yang telah disaring melalui penyaring dengan porositas 0,4  $\mu\text{m}$ ; jika perlu encerkan dengan *Pengencer*.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ , yang terlarut pada setiap interval waktu 4 jam, dengan mengukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 338 nm menggunakan sel 0,5-cm. [Catatan Untuk periode 4 jam, tetapkan serapan pada 456 nm, dan gunakan penetapan ini untuk mengoreksi pengaruh bahan tambahan tablet.]

*Toleransi* Persentase kumulatif jumlah nifedipin,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  yang dilepaskan dan terlarut secara in vivo pada interval waktu tertentu memenuhi *Tabel Penerimaan 2* seperti tertera pada etiket.

Waktu (jam)	Jumlah terlarut*
4	Antara 5-17%
8	-
12	Antara 43-80%
16	-
20	-
24	Tidak kurang dari 80%

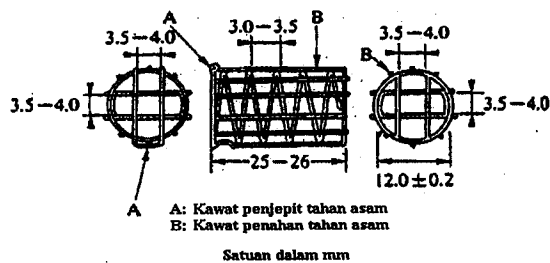
\*Jumlah terlarut didasarkan pada jumlah nifedipin yang tertera pada etiket.

**Uji 2** Jika sediaan memenuhi uji ini, pada etiket harus mencantumkan memenuhi syarat *Uji 2 Disolusi FI*.

*Dapar* Timbang 330,9 g *natrium fosfat dibasa P* dan 38 g *asam sitrat P*, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan air untuk melarutkan, tambahkan 10 ml *asam fosfat P*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Media disolusi:* 900 ml campuran *Dapar*-larutan *natrium lauril sulfat P* 10%. Buat campuran 125,0 ml *Dapar* dengan 1000 ml larutan *natrium lauril sulfat P* 10% dan encerkan dengan air hingga 10.000 ml. Jika perlu atur pH hingga 6,8.

*Alat tipe 2:* 50 rpm dengan sinker seperti pada *Gambar*.



Gambar

*Waktu:* 3, 6 dan 12 jam.

Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P*-air (70:30), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPLI*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 1,11 mg per ml. Encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Gunakan sejumlah alikuot yang telah disaring, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 350 nm dan kolom 12,5 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3  $\mu\text{m}$ . Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit dan pertahankan suhu kolom pada  $40^\circ$ . Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan uji* dan *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah nifedipin,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$  yang terlarut.

*Toleransi* Persentase jumlah nifedipin  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ , yang terlarut pada waktu tertentu berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket memenuhi *Tabel penerimaan 2*.

Waktu (jam)	Jumlah terlarut
3	Antara 10-30%
6	Antara 40-65%
12	Tidak kurang dari 80%

**Uji 3** Jika sediaan memenuhi uji ini, pada etiket harus dicantumkan memenuhi syarat *Uji 3 Disolusi FI*.

Untuk tablet nifedipin 30 mg.

**Fase 1**

*Media disolusi:* 900 ml *dapar fosfat 0,05 M pH 7,5.*

*Alat tipe 2:* 100 rpm

*Waktu:* 1 jam

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,034 mg per ml. [Catatan Jika perlu gunakan metanol P tidak lebih 10% dari volume akhir untuk membantu melarutkan nifedipin.]

[Catatan Setelah mencapai waktu, ambil tablet dari labu disolusi, letakkan pada sinker, dan pindahkan tablet dan sinker ke labu disolusi berisi media disolusi untuk Fase 2.] Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut pada Fase 1 dengan mengukur serapan alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, menggunakan *Media disolusi* sebagai blangko.

**Fase 2**

*Media disolusi:* 900 ml cairan lambung buatan P tanpa enzim, mengandung *natrium lauril sulfat 0,5%*, pH 1,2.

*Alat tipe 2:* 100 rpm

*Waktu:* 1, 4, 8, dan 12 jam

Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,034 mg per ml. [Catatan Jika perlu gunakan metanol P tidak lebih 10% dari volume akhir untuk membantu melarutkan nifedipin.]

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$  pada Fase 2 dengan mengukur serapan alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, menggunakan *Media disolusi* sebagai blangko.

*Toleransi* Persentase kumulatif jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut pada waktu tertentu berdasarkan yang tertera pada etiket memenuhi Tabel penerimaan 2.

Waktu (jam)	Jumlah terlarut*
1	Tidak lebih dari 30%
4	Antara 30-55%
8	Tidak kurang dari 60%
12	Tidak kurang dari 80%

\*Untuk setiap unit dosis, tambahkan persentase zat yang terlarut dalam *dapar fosfat 0,05M pH 7,5* dari Fase 1 ke dalam jumlah zat yang terlarut pada tiap waktu tertentu dari Fase 2.

Untuk tablet nifedipin 60 mg.

**Fase 1**

*Media disolusi:* 900 ml *dapar fosfat 0,05M pH 7,5.*

*Alat tipe 2:* 100 rpm.

*Waktu:* 25 menit.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,067 mg per ml. [Catatan Jika perlu gunakan metanol P tidak lebih 10% dari volume akhir untuk membantu melarutkan nifedipin.]

*Prosedur* [Catatan Setelah mencapai waktu, ambil tablet dari labu disolusi, letakkan pada sinker, dan

*pindahkan tablet dan sinker ke labu disolusi berisi media disolusi untuk fase 2.]* Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut pada Fase 1 dengan mengukur serapan filtrat alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, menggunakan *Media disolusi* sebagai blangko.

**Fase 2**

*Media disolusi:* 900 ml cairan lambung buatan P tanpa enzim, mengandung *natrium lauril sulfat 0,5%*, pH 1,2.

*Alat tipe 2:* 100 rpm

*Waktu:* 1, 4, 8, dan 12 jam

Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,067 mg per ml. [Catatan Jika perlu gunakan metanol P tidak lebih 10% dari volume akhir untuk membantu melarutkan nifedipin.]

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut pada Fase 2 dengan mengukur serapan filtrat alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, menggunakan *Media disolusi* sebagai blangko.

*Toleransi* Persentase kumulatif jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut pada waktu tertentu berdasarkan yang tertera pada etiket memenuhi Tabel penerimaan 2.

Waktu (jam)	Jumlah terlarut*
1	Tidak lebih dari 30%
4	Antara 40-70%
8	Tidak kurang dari 70%
12	Tidak kurang dari 80%

\*Untuk setiap unit dosis, tambahkan persentase zat yang terlarut pada Fase 1 ke dalam jumlah zat terlarut pada tiap waktu tertentu dari Fase 2.

*Uji 4* Jika sediaan memenuhi uji ini, pada etiket harus dicantumkan memenuhi syarat *Uji 4 Disolusi FI*.

*Media disolusi:* 900 ml cairan lambung buatan P tanpa enzim, mengandung *natrium lauril sulfat 0,5%*, pH 1,2.

*Alat tipe 2:* 100 rpm

*Waktu:* 1, 4, dan 12 jam

Timbang saksama sejumlah *Nifedipin BPFi*, larutkan dalam *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,067 mg per ml untuk tablet 60 mg dan 0,034 mg per ml untuk tablet 30 mg. [Catatan Jika perlu gunakan metanol P tidak lebih 10% dari volume akhir untuk membantu melarutkan nifedipin.]

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut dengan mengukur serapan filtrat alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, menggunakan *Media disolusi* sebagai blangko.

*Toleransi* Persentase kumulatif jumlah nifedipin,  $C_{17}H_{18}N_2O_6$ , yang terlarut pada waktu tertentu berdasarkan yang tertera pada etiket memenuhi Tabel penerimaan 2.

Untuk Tablet Nifedipin 30 mg

Waktu (jam)	Jumlah terlarut
1	Antara 12-35%
4	Antara 44-67%
12	Tidak kurang dari 80%

Untuk Tablet Nifedipin 60 mg

Waktu (jam)	Jumlah terlarut
1	Antara 10-30%
4	Antara 40-63%
12	Tidak kurang dari 80%

Uji 5 Jika sediaan memenuhi uji ini, pada etiket harus dicantumkan memenuhi syarat Uji 5 Disolusi FI.

Media disolusi: 50 ml air

Alat tipe 7 Lakukan seperti tertera pada Pelepasan obat <961>: 30 pencelupan per menit. Gunakan tangkai gelas pleksi 25 cm, sisi tablet ditempelkan pada tangkai dengan bantuan lem tidak larut air. Wadah larutan adalah tabung uji 25 mm dengan panjang 150-200 mm dan pertahankan suhu tangas air pada 37±0,5°.

Waktu : 4, 12, dan 24 jam

Pengencer 1 Campuran metanol P-asetonitril P (1:1).

Pengencer 2 Campuran Pengencer1- air (1:1).

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 50 mg Nifedipin BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 50 ml Pengencer 1, dan encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan secara kuantitatif larutan dengan Pengencer 2 hingga kadar lebih kurang 0,01; 0,05; dan 0,20 mg per ml yang digunakan untuk alikuot pada waktu berturut-turut 4, 12, dan 24 jam.

Prosedur [Catatan Untuk periode waktu 4 jam, saring alikuot, dan tetapkan serapan pada 456 nm. Gunakan nilai serapan ini untuk mengoreksi pengaruh bahan tambahan tablet.] Lakukan penetapan jumlah nifedipin, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> yang terlarut pada waktu tertentu dengan mengukur serapan alikuot yang telah disaring melalui penyaring yang sesuai dengan porositas 0,45 µm, jika perlu encerkan filtrat dengan campuran Pengencer 1 dan air hingga campuran akhir air-metanol P-asetonitril P (2:1:1) dan Larutan baku pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, menggunakan sel 0,5-cm dan Pengencer 2 sebagai blangko.

Toleransi Persentase kumulatif jumlah nifedipin, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, yang terlarut pada waktu tertentu berdasarkan yang tertera pada etiket memenuhi Tabel penerimaan 2.

Waktu (jam)	Jumlah terlarut
4	Tidak lebih dari 14%
12	Antara 39-75%
24	Tidak kurang dari 75%

Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

Senyawa sejenis Turunan nifedipin nitrofenilpiridin tidak lebih dari 2,0% dan turunan nifedipin nitrosofenilpiridin tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada

Kromatografi <931>. [Catatan Lakukan uji ini segera setelah penyediaan Larutan baku Nifedipin dan Larutan uji.]

Fase gerak Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Nifedipin.

Larutan baku Nifedipin, Larutan pembanding A dan Larutan pembanding B Lakukan seperti pada uji Senyawa sejenis dalam Nifedipin, kecuali gunakan larutan nifedipin dengan kadar lebih kurang 6 dan 1,5 µg per ml berturut-turut untuk Larutan pembanding A dan Larutan pembanding B.

Larutan kesesuaian sistem Buat campuran volume sama Larutan baku Nifedipin, Larutan pembanding A dan Larutan pembanding B.

Larutan baku Pipet 5 ml masing-masing Larutan baku nifedipin, Larutan pembanding A, dan Larutan pembanding B ke dalam wadah, tambahkan 5,0 ml Fase gerak. Tiap ml larutan ini mengandung lebih kurang 2 µg per ml Turunan Nifedipin Nitrofenilpiridin BPF1 dan 0,5 µg per ml Turunan Nifedipin Nitrosofenilpiridin BPF1.

Larutan uji Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara puncak turunan nifedipin nitrosofenilpiridin dan puncak turunan nitrosofenilpiridin tidak kurang dari 1,5; resolusi, R, antara puncak turunan nitrosofenilpiridin dan nifedipin tidak kurang dari 1,0; dan untuk setiap turunan nifedipin simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) Larutan baku dan Larutan uji, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase senyawa sejenis dalam tablet dengan rumus:

$$417 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

C adalah kadar baku pembanding turunan nifedipin yang sesuai dalam µg per ml Larutan baku; W adalah bobot dalam mg nifedipin dalam tablet yang digunakan untuk membuat Larutan uji; r<sub>i</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis yang sesuai dari Larutan uji dan Larutan baku.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>. [Catatan Lakukan penetapan kadar segera setelah Larutan baku dan Larutan uji dibuat.]

Fase gerak dan Larutan baku Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Nifedipin.

Pengencer Campuran asetonitril P- metanol P (1:1).

Larutan uji Gunakan sejumlah tablet setara dengan lebih kurang 420 mg nifedipin, serbukkan dan masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml yang berisi 130 ml air; atau masukkan tablet utuh ke dalam blender berkecepatan

tinggi dengan kapasitas wadah 400 ml yang berisi 130 ml air, homogenisasi hingga diperoleh suspensi homogen (lebih kurang 2 menit) dan pindahkan suspensi ke dalam labu tentukur 250-ml dengan bantuan *Pengencer*. Encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda dan kocok selama 30 menit. Sentrifus suspensi dan gunakan beningan. Pipet 3 ml beningan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda, saring. Larutan ini mengandung nifedipin lebih kurang 0,1 mg per ml. [Catatan Sisihkan sebagian Larutan uji untuk digunakan pada uji Senyawa sejenis.]

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dan kolom pelindung 3 cm x 2,1 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 4000 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0 %.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase nifedipin, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

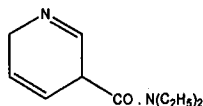
$$4167 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Nifedipin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan simpan pada suhu ruang terkendali.

**Penandaan** Pada etiket, cantumkan uji disolusi yang digunakan.

### NIKETAMIDA Niketamide



*N,N*-diethylpiridin-3-karboksamida [59-26-7]  
C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O

BM 178,2

Niketamida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian Cairan** seperti minyak atau massa hablur; tidak berwarna atau agak kekuningan; berbau lemah dan khas.

**Kelarutan** Dapat bercampur dengan air, dengan etanol, dengan kloroform dan dengan eter.

**Baku pembanding** *Niketamida BPFi*; *Etilnikotinamida BPFi*.

**Identifikasi Uji A** dapat diabaikan jika uji *B*, *C* dan *D* dilakukan. Uji *C* dan *D* dapat diabaikan jika uji *A* dan *B* dilakukan.

**A.** Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kaliun bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Niketamida BPFi*.

**B.** Spektrum serapan larutan 0,0015% dalam *asam klorida 0,01 N* setebal 2 cm pada panjang gelombang 230 - 350 nm menunjukkan maksimum hanya pada 263 nm. Serapan jenis pada panjang gelombang 263 nm adalah lebih kurang 285.

**C.** Panaskan 100 mg zat dengan 1 ml *natrium hidroksida 2 N*: terjadi bau khas dietilamina, yang makin lama makin kuat, yang membirukan kertas *lakmus P*.

**D.** Pada 2 ml larutan 0,1% tambahkan 2 ml *sianogen bromida LP* dan 3 ml larutan *anilina P 2,5%*, kocok: terjadi warna kuning.

**pH** <1071> 6,0 sampai 7,8; lakukan penetapan menggunakan larutan 25%.

**Kejernihan larutan** Harus jernih; lakukan penetapan menggunakan bentuk cair atau cairan yang diperoleh dengan pemanasan secara hati-hati.

**Warna dan akromisitas** <1291> *Metode III* Warna tidak lebih intensif dari *Larutan padanan W5*.

**Indeks bias** <1001> 1,524 sampai 1,526.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan menggunakan larutan 10,0% dan *Larutan baku timbal* (1 bpj Pb) sebagai larutan baku.

**Senyawa sejenis** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan 1** Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 4%.

**Larutan 2** Timbang saksama sejumlah *Etilnikotinamida BPFi*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 0,04%.

**Larutan 3** Encerkan *Larutan 2* dengan *metanol P* hingga kadar 0,004%.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan 1*, *Larutan 2* dan *Larutan 3* pada lempeng kromatografi silika gel GF254. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi fase gerak kloroform *P-n-propanol P* (75:25). Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bercak etilnikotinamida dari *Larutan 1* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan 2* dan bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari *Larutan 1* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan 3*.

**Sisa pemijaran <301> Metode II** Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

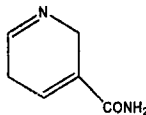
**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 0,3%; lakukan penetapan menggunakan 2 g zat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 150 mg zat, larutkan dalam campuran 20 ml *asam asetat glasial P* dan 5 ml *anhidrida asetat P*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N* setara dengan 17,82 mg  $C_{10}H_{14}N_2O$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**NIKOTINAMIDA**  
**NIASINAMIDA**  
**Niacinamide**



*Piridin-3-karboksamida* [98-92-0]  
 $C_6H_6N_2O$

BM 122,12

Nikotinamida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5%  $C_6H_6N_2O$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih; tidak berbau atau praktis tidak berbau; rasa pahit. Larutan bersifat netral terhadap kertas lakmus.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam gliserin.

**Baku pembanding** *Nikotinamida BPHI*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi**

A. Didihkan 100 mg zat dengan 1 ml *natrium hidroksida 2 N*; terjadi bau amoniak.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20 µg per ml menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Nikotinamida BPHI*; perbandingan  $A_{245}/A_{262}$  adalah antara 0,63 dan 0,67.

**Jarak lebur <1021>** Antara 128° dan 131°.

**pH <1071>** Antara 6,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan 5%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 30 bpj.

**Senyawa sejenis** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Campuran *kloroform P-etanol mutlak P-air* (48:45:4).

**Larutan 1** Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *etanol P 50%* hingga kadar 8%.

**Larutan 2** Encerkan *Larutan 1* dengan *etanol P 50%* hingga kadar 0,020%.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah 5 µl *Larutan 1* dan *Larutan 2* pada lempeng kromatografi silika gel *GF<sub>254</sub>*. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga 10 cm di atas garis penolakan. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan fase gerak menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bercak lain selain bercak utama *Larutan 1* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan 2*.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Zat mudah terarangkan <411>** Larutkan 200 mg zat dalam 5 ml *asam sulfat LP*; larutan berwarna tidak lebih intensif dari *Larutan padanan A*.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat larutan *natrium 1-heptan sulfonat 0,005 M-metanol P* (70:30), saring dan awaudarkan.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Nikotinamida BPHI*, masukkan dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam lebih kurang 3 ml air, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 4 ml larutan, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Larutan resolusi** Buat larutan yang mengandung sejumlah volume sama *Larutan baku* dan larutan niasin yang dibuat dengan cara yang sama dan mempunyai kadar yang sama.

**Larutan uji** Buat dengan cara yang sama seperti *Larutan baku*.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*; resolusi, *R*, antara puncak niasin dan nikotinamida tidak kurang dari 3,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons

puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nikotinamida, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

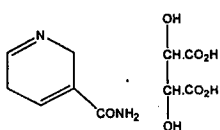
$$1250 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Nikotinamida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## NIKOTINIL ALKOHOL TARTRAT

### Nicotinyl Alcohol Tartrate



*3-piridilmetanol hidrogen tartrat* [6164-87-0]

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

BM 259,2

Nikotinil Alkohol Tartrat mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur putih, atau hampir putih; tidak berbau atau hampir tidak berbau.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Nikotinil Alkohol Tartrat BPFi*.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan 0,004% dalam *asam klorida 0,1 N* pada panjang gelombang 230 nm sampai 350 nm menunjukkan maksimum hanya pada panjang gelombang 261 nm. Serapan pada 261 nm lebih kurang 0,84.

B. Pada uji *Senyawa sejenis*, bercak utama yang diperoleh dari *Larutan 2* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

C. Menunjukkan reaksi *Tartrat* cara B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**pH** <1071> 2,8 sampai 3,7; lakukan penetapan menggunakan larutan 5%.

**Kejernihan larutan** <881> Harus jernih; lakukan penetapan menggunakan larutan 5,0%.

**Warna dan Akromisitas** <1291> *Metode III* Warna larutan tidak lebih intensif dari *Larutan padanan W5*; lakukan penetapan menggunakan larutan 5,0%.

**Suhu lebur** <1021> 146° sampai 150°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam, menggunakan 1 g zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 2,0 g zat.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan menggunakan 12 ml larutan yang diperoleh dengan melarutkan sisa pemijaran dalam 1 ml *asam klorida 2 N* dan encerkan dengan air sampai 20 ml. Gunakan *Larutan baku timbal* (2 bpj) sebagai pembanding.

**Nikotinaldehida** Serapan campuran 10 ml larutan zat 10% dan 10 ml larutan *fenilhidrazina hidroklorida P* 1,0% dalam *asam fosfat 3,6 M*, yang diencerkan dengan air hingga 50 ml dan biarkan selama 30 menit, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 370 nm terhadap blangko larutan *fenilhidrazina hidroklorida P* 0,20% dalam *asam fosfat 0,72 M*, tidak lebih besar dari serapan 50 ml larutan piridin-3-karboksaldehida 0,0010% yang diperlakukan sama.

**Senyawa sejenis** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran *diklorometan P-1,4-dioksan P-metanol P-amonium hidroksida P* (50:30:16:4)

*Larutan 1* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *amonium hidroksida 0,1 N* hingga kadar 25%.

*Larutan 2* Encerkan *Larutan 1* dengan *amonium hidroksida 0,1 N* hingga kadar 0,050%.

*Larutan pembanding* Timbang saksama sejumlah 3-pikolilamina, larutkan dalam *amonium hidroksida 0,1 N* hingga kadar 0,050%.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nikotinil Alkohol Tartrat BPFi*, larutkan dalam *amonium hidroksida 0,1 N* hingga kadar 0,050%.

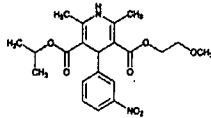
*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan 1* dan *Larutan 2*, *Larutan pembanding* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi silika gel GF254. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Semprot lempeng dengan larutan 2,4,6-trinitroklorobenzen 2% dalam *etanol mutlak P*, keringkan dengan aliran udara dan semprot dengan larutan *natrium karbonat dekahidrat P* 5%. Bercak *Larutan 1* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan pembanding* 3-pikolilamina. Bercak lain selain bercak utama *Larutan 1* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan 2*. Abaikan bercak asam tartrat pada garis penotolan.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan secara *Titrasasi Bebas Air* dalam *Titrimetri <711>* menggunakan lebih kurang 250 mg zat yang ditimbang saksama, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* dan tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 25,92 mg C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**NIMODIPIN**  
**Nimodipine**



Isopropil 2-metoksietil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(*m*-nitrofenil)-3,5-piridindikarboksilat [66085-59-4]  
C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> BM 418,44

Nimodipin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Baku pembanding** *Nimodipin BPFi, Senyawa Sejenis A Nimodipin BPFi* [Catatan Larutan baku, Larutan uji terlindung cahaya, lakukan penetapan segera di bawah cahaya redup atau gunakan alat gelas aktinik rendah.]

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Nimodipin BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku 1 seperti diperoleh pada *Senyawa sejenis*.

**Rotasi jenis** <781> Antara -10° dan +10°. Gunakan larutan zat 50 mg per ml dalam aseton P.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Senyawa sejenis** Senyawa sejenis A nimodipin tidak lebih dari 0,1%; masing-masing cemaran lain tidak lebih dari 0,2% dan total cemaran tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran air-metanol P-tetrahidrofuran P (3:1:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku 1** Timbang saksama sejumlah *Nimodipin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dalam tetrahidrofuran P lebih kurang 10% dari volume labu tentukur, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1,6 mg per ml. Encerkan

larutan ini dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 3,2 µg per ml.

**Larutan baku 2** Timbang saksama sejumlah *Nimodipin BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Nimodipin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dalam tetrahidrofuran P lebih kurang 10% dari volume labu tentukur, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar *Nimodipin BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Nimodipin BPFi* masing-masing lebih kurang 0,8 mg per ml. Encerkan larutan dengan *Fase gerak* hingga kadar *Nimodipin BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Nimodipin BPFi* masing-masing lebih kurang 1,6 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 40 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dalam 2,5 ml tetrahidrofuran P, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 235 nm dan kolom 12,5 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada 40°. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku 2*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara puncak senyawa sejenis A nimodipin dan nimodipin tidak kurang dari 1,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%. [Catatan Untuk tujuan identifikasi, waktu retensi relatif untuk senyawa sejenis A nimodipin dan nimodipin berturut-turut lebih kurang 0,9 dan 1,0.]

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2*, dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, ukur respons puncak. [Catatan Rekam kromatogram Larutan uji selama empat kali waktu retensi nimodipin.] Hitung persentase senyawa sejenis A dalam nimodipin dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{100}{1000} \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar *Senyawa Sejenis A Nimodipin BPFi*, dalam µg per ml *Larutan baku 2*; C<sub>U</sub> adalah kadar nimodipin dalam mg per ml *Larutan uji*; r<sub>U</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis A nimodipin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku 2*: didapatkan tidak lebih dari 0,1% senyawa sejenis A nimodipin. Hitung persentase masing-masing cemaran lain dalam zat dengan rumus:

$$\frac{100}{1000} \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar *Nimodipin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku 1*; C<sub>U</sub> adalah kadar nimodipin, dalam mg per ml *Larutan uji*; r<sub>i</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji* dan r<sub>s</sub> adalah respons puncak nimodipin dari *Larutan baku 1*: didapatkan



cemaran lain tidak lebih dari 0,2%; dan total cemaran tidak lebih dari 0,5%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 180 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 100 ml, tambahkan campuran 25 ml *butil alkohol tersier P* dan 25 ml *asam perklorat LP*, panaskan hati-hati sambil diaduk hingga larut. Tambahkan 0,1 ml *feroin LP*. Titrasasi dengan *serium sulfat 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko, jika perlu lakukan koreksi.

*Tiap ml serium sulfat 0,1 N  
setara dengan 20,92 mg C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan pada suhu 25° masih diperbolehkan antara 15° dan 30°.

## NISTATIN

### Nystatin

*Nistatin* [1400-61-9]

Nistatin adalah zat atau campuran dua atau lebih zat, dihasilkan oleh biakan *Streptomyces noursei* Brown et al. (Familia *Streptomycetaceae*). Mempunyai potensi tidak kurang dari 4400 unit Nistatin FI per mg, bila ditujukan untuk pemakaian dalam bentuk suspensi oral tidak kurang dari 5000 unit Nistatin FI per mg.

**Pemerian Serbuk**; kuning hingga cokelat muda; berbau biji-bijian; higroskopik, dan dapat terpengaruh oleh cahaya, panas dan udara dalam waktu lama.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; sukar hingga agak sukar larut dalam etanol, dalam metanol, dalam n-propanol, dan dalam n-butanol; tidak larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen.

**Baku pembanding** *Nistatin BPFi*; Lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 40° sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam lemari pembeku.

**Identifikasi** Masukkan lebih kurang 50 mg zat ke dalam labu tentukur 100-ml bersumbat kaca, tambahkan 25 ml *metanol P* dan 5 ml *asam asetat glasial P* untuk melarutkan, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda: spektrum serapan ultraviolet yang ditetapkan segera, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Nistatin BPFi*, menggunakan blangko larutan *asam asetat glasial P* dalam *metanol P* (1 dalam 1000). Perbandingan serapan pada 230 nm dan 279 nm adalah antara 0,90 dan 1,25.

**Suspendibilitas** (Bila kemasan ditujukan untuk pemakaian suspensi oral) Tidak kurang dari 90,0% jumlah unit Nistatin FI yang diharapkan, berdasarkan potensi yang diperoleh dari *Penetapan potensi*. Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml berisi 200,0 ml air. Dispersikan dengan mengaduk hati-hati menggunakan batang pengaduk. Biarkan 2 menit, dan amati suspensi: akan terjadi suspensi dengan sedikit atau tanpa endapan pada dasar gelas piala. Bila terjadi endapan, tetapkan kadar suspensi tanpa digoyangkan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>, menggunakan sejumlah volume suspensi yang diukur saksama. Masukkan ke dalam blender berkecepatan tinggi berisi sejumlah volume *dimetilformamida P* hingga diperoleh kadar *Larutan persediaan* yang mengandung lebih kurang 400 unit Nistatin FI per ml, blender selama 3 - 5 menit. Encerkan *Larutan persediaan* secara kuantitatif dengan *Dapar nomor 6* hingga diperoleh *Enceran larutan uji* dengan kadar yang diperkirakan sama dengan aras dosis tengah baku.

**Sifat hablur** <1091> (Bila kemasan ditujukan untuk pemakaian suspensi oral) Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 8,0; lakukan penetapan menggunakan suspensi 3%.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 5,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, dalam hampa udara pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg zat yang ditimbang saksama.

**Komposisi** Nistatin A<sub>1</sub> tidak kurang dari 85%; cemaran lain tidak lebih dari 4,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan A* Campuran amonium asetat P 0,05 M-asetonitril P (71:29).

*Larutan B* Campuran asetonitril P - amonium asetat P 0,05 M (60:40).

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nistatin BPFi*, larutkan dalam *dimetil sulfoksida P* hingga kadar lebih kurang 0,4 mg per ml. [Catatan Lindungi larutan ini dari cahaya dan gunakan dalam waktu 24 jam, jika disimpan dalam lemari pendingin.]

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml aktinik rendah, larutkan dan encerkan dengan *dimetil sulfoksida P* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 24 jam, jika disimpan dalam lemari pendingin.]

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat, larutkan dalam 25 ml *metanol P* dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Pipet 10 ml larutan,

tambahkan 2 ml asam klorida P encer dan biarkan pada suhu ruang selama 1 jam.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV 304 nm dan kolom "end-capped" 4,6 mm x 15 cm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 30°. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-25	100	0	isokratik
25-35	100→0	0→100	gradien
35-40	0	100	isokratik
40-45	0→100	100→0	gradien
45-50	100	0	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara dua puncak utama tidak kurang dari 3,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: eluasi puncak utama nistatin A<sub>1</sub> lebih kurang 14 menit.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 20 µl *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak, abaikan puncak yang tereluasi kurang dari 2 menit. Hitung persentase masing-masing puncak dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_T} \right)$$

r<sub>i</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran; dan r<sub>T</sub> adalah jumlah seluruh respons puncak.

**Penetapan potensi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Jika dikemas untuk pembuatan suspensi oral harus dicantumkan pada etiket.

### KRIM NISTATIN Nystatin Cream

Krim Nistatin mengandung Nistatin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% unit Nistatin FI dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Nistatin BPFJ*; Lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 40° sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam lemari pembeku.

**Isi minimum** <861> Memenuhi syarat.

**Penetapan potensi** Lakukan seperti tertera pada *Nistatin dalam Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>. Masukkan sejumlah krim dan sejumlah volume *dimetilformamida P* hingga diperoleh sejumlah *Larutan persediaan* yang mengandung tidak kurang 400 unit Nistatin FI per ml. Encerkan *Larutan persediaan* secara kuantitatif dengan *Dapar nomor 6* hingga diperoleh *Enceran larutan uji* dengan kadar yang diperkirakan sama dengan aras dosis tengah baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tube atau wadah tertutup rapat, hindarkan dari panas berlebih.

### LOSIO NISTATIN Nystatin Lotion

Losio Nistatin mengandung Nistatin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 140,0% unit Nistatin FI dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Nistatin BPFJ*; Lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 40° sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam lemari pembeku.

**pH** <1071> Antara 5,5 sampai 7,5.

**Penetapan potensi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan potensi* dalam *Krim Nistatin*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, pada suhu ruang terkendali.

### SALEP NISTATIN Nystatin Ointment

Salep Nistatin mengandung Nistatin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% unit Nistatin FI dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Nistatin BPFJ*; Lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 40° sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam lemari pembeku.

**Isi minimum** <861> Memenuhi syarat.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 20 ml campuran *toluen P-metanol P* (7:3) sebagai pengganti *metanol P* dalam bejana titrasi.

**Penetapan potensi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan potensi* dalam *Krim Nistatin*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, pada suhu ruang terkendali.

### SUSPENSI ORAL NISTATIN Nystatin Oral Suspension

Suspensi Oral Nistatin mengandung Nistatin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% unit Nistatin FI dari jumlah yang tertera pada etiket. Mengandung bahan pendispersi, pewangi, pengawet dan zat suspensi yang sesuai.

**Baku pembanding Nistatin BPFI;** lakukan pengeringan dalam hampa udara (tekanan udara tidak lebih dari 5 mm Hg) pada suhu 40° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pembeku.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat; untuk *Suspensi dikemas dalam wadah dosis tunggal.*

*Prosedur keseragaman kandungan [Catatan Gunakan peralatan kaca aktinik rendah.]* Faktor koreksi, *F*, dihitung seperti pada bagian (4) dari *Keseragaman kandungan* dalam *Keseragaman Sediaan <911>*, dinyatakan tidak memenuhi jika angka yang diperoleh dengan rumus dalam kalimat kedua lebih besar dari 25; ikuti bagian (5) dan bagian (6), kecuali mengganti 0,900 dengan 0,750. Pindahkan isi yang telah dikocok sempurna dari satu wadah suspensi oral ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar *Larutan uji* lebih kurang 25 unit Nistatin FI per ml. Dengan cara yang sama, buat larutan baku *Nistatin BPFI* dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 25 unit Nistatin FI per ml. Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 304 nm menggunakan *metanol P* sebagai blangko. Hitung jumlah unit Nistatin FI dalam wadah yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{CL}{D}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

*C* adalah kadar *Larutan baku* dalam unit Nistatin FI per ml; *L* adalah jumlah unit Nistatin FI yang tertera pada etiket; *D* adalah kadar *Larutan uji* dalam unit Nistatin FI berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Volume terpindahkan <1261>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 6,0 atau jika mengandung gliserin: antara 5,3 dan 7,5.

**Penetapan kadar** Lakukan seperti tertera pada *Nistatin dalam Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>*. Ukur saksama sejumlah volume suspensi yang baru dikocok dan bebas gelembung udara dan sejumlah volume *dimetilformamida P* hingga diperoleh larutan dengan kadar sesuai, masukkan ke dalam blender dan blender dengan kecepatan tinggi selama 3 - 5 menit. Ukur saksama campuran ini, dan encerkan dengan *dimetilformamida P* hingga diperoleh *Larutan persediaan* dengan kadar lebih kurang 400 unit Nistatin FI per ml. Encerkan *Larutan persediaan* secara kuantitatif dengan *Dapar nomor 6* hingga kadar *Enceran larutan uji* diperkirakan sama dengan aras dosis tengah baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### TABLET NISTATIN Nystatin Tablet

Tablet Nistatin mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% unit Nistatin FI dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Nistatin BPFI;** lakukan pengeringan dalam hampa udara (tekanan udara tidak lebih dari 5 mmHg) pada suhu 40° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pembeku.

**Susut pengeringan <1221>** Tidak lebih dari 5,0% untuk tablet salut biasa; tidak lebih dari 8,0% untuk tablet salut film; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, dalam hampa udara (tekanan tidak lebih dari 5 mmHg) pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg serbuk tablet.

**Waktu hancur <1251>** 120 menit untuk tablet salut biasa.

**Penetapan potensi** Lakukan seperti tertera pada *Nistatin dalam Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>*. Masukkan tidak kurang dari 5 tablet dan sejumlah volume *dimetilformamida P* yang diukur saksama hingga diperoleh larutan dengan kadar sesuai, masukkan ke dalam blender dan blender dengan kecepatan tinggi selama 3 - 5 menit. Encerkan secara kuantitatif dengan *dimetilformamida P* hingga kadar *Larutan persediaan* lebih kurang 400 unit Nistatin FI per ml. Encerkan secara kuantitatif *Larutan persediaan* dengan *Dapar nomor 6* hingga kadar *Enceran larutan uji* diperkirakan sama dengan aras dosis tengah baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET VAGINAL NISTATIN

### Nystatin Vaginal Inserts

Tablet Vaginal Nistatin mengandung Nistatin dengan bahan pengikat, pengencer dan pelicin yang sesuai. Mengandung nistatin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 140,0% unit Nistatin FI dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Nistatin BPF1*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan udara tidak lebih dari 5 mm Hg dan suhu 40° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pembeku.

**Susut pengeringan** <1221> Tidak lebih dari 5,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, pada hampa udara (tekanan tidak lebih dari 5 mmHg) dan suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg serbuk tablet.

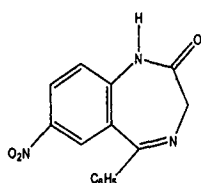
**Waktu hancur** <1251> Tidak lebih dari 60 menit.

**Penetapan potensi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan potensi* dalam *Tablet Nistatin*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan dalam lemari pendingin jika tertera pada etiket.

## NITRAZEPAM

### Nitrazepam



*1,3-Dihidro-7-nitro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-on*  
[146-22-5]  
 $C_{15}H_{11}N_3O_3$  BM 281,3

Nitrazepam mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{15}H_{11}N_3O_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam eter; agak sukar larut dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Nitrazepam BPF1*; *3-Amino-6-nitro-4-fenil-2-kuinolon BPF1*.

**Identifikasi Uji A** dapat diabaikan jika uji *B*, *C*, *D* dan *E* dilakukan. Uji *B*, *C* dan *D* dapat diabaikan jika uji *A* dan *E* dilakukan.

**A.** Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Nitrazepam BPF1*.

**B.** Pengukuran dilakukan pada larutan segar, terlindung cahaya. Spektrum serapan ultraviolet larutan 0,0005% dalam larutan *asam sulfat P* 0,5% dalam *metanol P* pada panjang gelombang 230 nm sampai 350 nm menunjukkan maksimum hanya pada 280 nm; serapan jenis pada panjang gelombang 280 nm adalah 890 sampai 950.

**C.** Larutan 20 mg zat dalam campuran 5 ml *asam klorida P* dan 10 ml air. Dididihkan selama 5 menit, dinginkan dan tambahkan 2 ml larutan *natrium nitrit P* 0,1%. Biarkan selama 1 menit, tambahkan larutan *asam sulfamat P* 0,5%. Campur dan biarkan 1 menit, tambahkan 1 ml larutan *N-(1-Naftil)etilendiamina dihidroklorida P* 0,1%; terjadi warna merah.

**D.** Larutkan 10 mg zat dalam 1 ml *metanol P*, hangatkan jika perlu dan tambahkan 0,05 ml *natrium hidroksida 2 N*; terjadi warna kuning intensif.

**Suhu lebur** <1021> *Metode I* Antara 226° dan 230°.

**Logam berat** <371> *Metode VI* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan menggunakan 1,0 g zat dan 2 ml *Larutan baku timbal* (10 bpj Pb) sebagai larutan baku.

**Senyawa sejenis** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>, terlindung cahaya; gunakan larutan segar.

*Larutan 1* Timbang saksama sejumlah zat uji, larutkan dalam *aseton P* hingga kadar 2,0%.

*Larutan 2* Encerkan *Larutan 1* dengan *aseton P* hingga kadar 0,0020%.

*Larutan pembanding I* Timbang saksama sejumlah *2-amino-5-nitrobenzofenon BPF1*, larutkan dalam *aseton P* hingga kadar 0,0020%.

*Larutan pembanding II* Timbang saksama sejumlah *3-amino-6-nitro-4-fenil-2-kuinolona BPF1*, larutkan dalam *aseton P* hingga kadar 0,0020%.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah 10 µl *Larutan 1*, *Larutan 2*, *Larutan pembanding I* dan *Larutan pembanding II* pada lempeng kromatografi silika gel GF254. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak *nitrometana P-etil asetat P* (85:15), hingga merambat 12 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan amati dibawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bercak pada kromatogram *Larutan 1* yang sesuai dengan *2-amino-5-nitrobenzofenon* dan *3-amino-6-nitro-4-fenil-2-kuinolon*, tidak lebih intensif dari bercak *Larutan 2* dan *Larutan pembanding I* dan bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari *Larutan 1* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan pembanding II*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 100° sampai 105° selama 4 jam, menggunakan 1 g zat.

**Sisa pemijaran <301> Metode II** Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan secara *Titration Bebas Air* dalam *Titrimetri <711>*. Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, larutkan dalam 25 ml *anhidrida asetat P*. Titrasi dengan *asam perklorat 0,2 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 28,13 mg  $C_{15}H_{11}N_3O_3$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

## TABLET NITRAZEPAM Nitrazepam Tablet

Tablet Nitrazepam mengandung Nitrazepam,  $C_{15}H_{11}N_3O_3$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet pada panjang gelombang 230 - 350 nm, seperti tertera pada *Penetapan kadar*, menunjukkan maksimum hanya pada 280 nm.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Campuran kloroform P-metanol P (100:10).

*Larutan baku* Timbang sejumlah Nitrazepam BPF1, larutkan dalam metanol hingga kadar 0,5%.

*Larutan uji* Timbang sejumlah serbuk tablet larutkan dalam metanol P secukupnya hingga kadar nitrazepam 0,5%, biarkan mengendap dan enaptuangkan.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah 2  $\mu$ l *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi silika gel G. Masukkan ke dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan *Fase gerak* menguap dan semprot dengan larutan asam sulfat P 10% dalam etanol mutlak P. Panaskan lempeng pada suhu 105° selama 10 menit dan amati di bawah cahaya ultraviolet 365 nm: bercak utama yang diperoleh pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan bercak utama *Larutan baku*.

C. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 5 mg nitrazepam, tambahkan 5 ml asam klorida P dan 10 ml air, panaskan di atas tangas air selama 15 menit, saring. Pada filtrat yang jernih tambahkan 1 ml larutan natrium nitrit P 0,1%, biarkan 3 menit, tambahkan 1 ml larutan asam sulfamat P 0,5%, biarkan 3 menit dan tambahkan 1 ml larutan *N-(1-naftil)etilen-1,2-diamin dihidroklorida P* 0,1%: terjadi warna merah.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml asam klorida 0,1 N.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{15}H_{11}N_3O_3$  yang terlarut dengan mengukur serapan filtrat larutan uji, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan ukur serapan larutan baku Nitrazepam BPF1 dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum 280 nm; serapan jenis pada panjang gelombang serapan maksimum 280 nm adalah 870.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q)  $C_{15}H_{11}N_3O_3$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Senyawa sejenis dan hasil urai** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*, terlindung cahaya.

*Fase gerak* Campuran etil asetat P- nitrometana P (15:85).

*Larutan baku I* Timbang 10 mg aminonitro benzofenon, larutkan dan encerkan dengan aseton P hingga 100 ml; encerkan 25 ml larutan ini dengan aseton P hingga 50 ml (larutan ini dibuat segar sebelum digunakan).

*Larutan baku II* Timbang 10 mg *Senyawa Sejenis A Nitrazepam BPF1* (3-amino-6-nitro-4-fenilkuinol-2-on) larutkan dan encerkan dengan aseton P, hingga 100 ml; encerkan 25 ml larutan ini dengan aseton P hingga 50 ml (larutan ini dibuat segar sebelum digunakan).

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan 20 mg nitrazepam, kocok dengan 4 ml campuran metilen klorida P- metanol P (1:1) selama 5 menit, sentrifus dan gunakan beningan.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l *Larutan uji*, *Larutan baku I*, *Larutan baku II* yang dibuat segar pada lempeng kromatografi silika gel GF<sub>254</sub>. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga 12 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bercak *Larutan uji* yang sesuai dengan 2-amino-5-nitrobenzofenon tidak lebih intensif dari bercak *Larutan baku I* (1%) dan bercak lain yang sesuai dengan 3-amino-6-nitro-4-fenilkuinol-2-on tidak lebih intensif dari bercak *Larutan baku II* (1%).

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

### Keseragaman kandungan

Masukkan sebuah tablet yang sudah diserbuk ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 5 ml air, campur dan diamkan selama 15 menit. Tambahkan 70 ml asam klorida P 0,5% dalam metanol P, kocok selama 15 menit, tambahkan asam klorida P 0,5% dalam metanol P sampai tanda. Jika perlu encerkan secara bertahap dengan asam klorida P 0,5% dalam metanol P hingga kadar nitrazepam 0,001% (b/v). Ukur serapan larutan segera pada panjang gelombang maksimum 280 nm, menggunakan asam klorida P 0,5% dalam metanol P sebagai blangko. Hitung jumlah  $C_{15}H_{11}N_3O_3$  dengan membandingkan serapan larutan uji dengan serapan larutan baku Nitrazepam BPF1.

**Penetapan kadar**

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Nitrazepam B<sub>PFI</sub>, larutkan dalam larutan asam klorida P 0,5% dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 0,01 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 5 mg nitrazepam, tambahkan 5 ml air, campur dan biarkan selama 15 menit. Tambahkan 70 ml larutan asam klorida P 0,5% dalam metanol P, kocok selama 15 menit. Tambahkan larutan asam klorida yang sama hingga 100 ml dan saring. Encerkan 10 ml filtrat dengan larutan asam klorida yang sama hingga 50 ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 280 nm. Hitung jumlah dalam mg nitrazepam, C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, dalam zat uji dengan rumus:

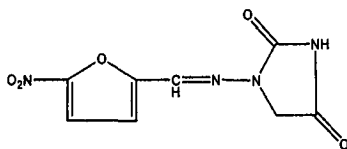
$$500C \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

C adalah kadar Nitrazepam B<sub>PFI</sub> dalam mg per ml *Larutan baku*; A<sub>U</sub> dan A<sub>S</sub> berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

**NITROFURANTOIN**

**Nitrofurantoin**



1-[(5-nitrofururilidena)amino] hidantoin [67-20-9]  
C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (anhidrat) BM 238,16  
Monohidrat [17140-81-7] BM 256,18

Nitrofurantoin adalah senyawa anhidrat atau mengandung satu molekul air hidrat, mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat. [Perhatian Nitrofurantoin dan larutan menjadi tidak berwarna oleh alkali dan cahaya, dan terurai bila terpapar logam kecuali aluminium dan baja tahan karat.]

**Pemerian** Hablur atau serbuk halus, kuning jeruk, tidak berbau, rasa pahit.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam dimetilformamida.

**Baku pembanding** Nitrofurantoin B<sub>PFI</sub>; lakukan pengeringan pada suhu 140° selama 30 menit sebelum

digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Nitrofurazon B<sub>PFI</sub>; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 1 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Hindarkan paparan sinar matahari langsung, cahaya fluoresensi kuat, panas berlebih dan bahan alkali. Nitrofurfural Diasetat B<sub>PFI</sub>; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada suhu 140° selama 30 menit dan didispersikan dalam minyak mineral P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Nitrofurantoin B<sub>PFI</sub>.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Air <1031> Metode III** Tidak lebih dari 1,0% untuk bentuk anhidrat; antara 6,5% dan 7,5% untuk bentuk hidrat. Lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 140° selama 30 menit.

**Nitrofurfural diasetat** Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran kloroform P -metanol P (9:1).

*Penampak bercak* Timbang 750 mg fenilhidrazin hidroklorida, larutkan dalam 50 ml air, hilangkan warna dengan arang aktif P, tambahkan 25 ml asam klorida P dan campur dengan air hingga 200 ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Nitrofurfural Diasetat B<sub>PFI</sub>, larutkan dalam campuran dimetilformamida P-aseton P (1 dalam 10) hingga kadar lebih kurang 100 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dalam 1 ml dimetilformamida P, encerkan dengan aseton P sampai tanda.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*. Biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan di udara selama 5 menit dan panaskan pada suhu 105° selama 5 menit dan selagi hangat semprot lempeng dengan *Penampak bercak*. Bercak *Larutan uji* pada harga R<sub>f</sub> lebih kurang 0,7 tidak lebih besar atau lebih intensif dari bercak *Larutan baku* pada harga R<sub>f</sub> yang sama.

**Nitrofurazon** Tidak lebih dari 0,01%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat pH 7,0* Larutkan 6,8 g kalium fosfat monobasa P dalam lebih kurang 500 ml air. Tambahkan sejumlah natrium hidroksida 1 N secukupnya (lebih

kurang 30 ml) hingga pH 7,0; encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar fosfat pH 7,0 - tetrahidrofuran P* (9:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Nitrofurazon BPF1*, larutkan dalam *dimetilformamida P*, hingga kadar lebih kurang 5,0 µg per ml. Pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu bersumbat kaca, tambahkan 20,0 ml air, campur.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah nitrofurazon dan nitrofurantoin, larutkan dalam *dimetilformamida P*, hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,5 µg per ml. Encerkan larutan ini dengan *Fase gerak* (1:10).

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan dalam labu bersumbat kaca 25 ml, larutkan dalam 2,0 ml *dimetilformamida P*. Tambahkan 20,0 ml air, campur dan biarkan selama 15 menit hingga terbentuk endapan. Saring sejumlah larutan melalui penyaring nilon porositas 0,45 µm dan gunakan filtrat.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 375 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,6 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, atur parameter percobaan hingga waktu retensi puncak nitrofurantoin lebih kurang 10,5 menit dan tinggi lebih kurang 0,1 skala penuh. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara kedua puncak tidak kurang dari 4,0.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume (60 - 100 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Respons puncak kromatogram *Larutan uji* pada waktu retensi yang sama tidak lebih dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Dapar fosfat pH 7,0** Lakukan seperti tertera pada *Nitrofurazon*.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar fosfat pH 7,0 - asetonitril P* (88:22), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan baku internal** Timbang saksama sejumlah *asetanilida P*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Nitrofurantoin BPF1*, masukkan ke dalam labu bersumbat kaca, larutkan dalam 40,0 ml *dimetilformamida P*, tambahkan 50,0 ml *Larutan baku internal*.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, lanjutkan seperti tertera pada *Larutan baku*.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi *L1*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, atur parameter percobaan hingga waktu retensi puncak nitrofurantoin lebih kurang 8 menit dan tinggi lebih kurang 0,5 skala penuh. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak *asetanilida* dan nitrofurantoin tidak kurang dari 3,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume (5 - 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nitrofurantoin,  $C_8H_6N_4O_5$  dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$W \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*W* adalah bobot dalam mg *Nitrofurantoin BPF1* dalam *Larutan baku*;  $R_u$  dan  $R_s$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak nitrofurantoin terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Pada etiket tertera bentuk anhidrat, hidrat atau makrohablur. Jika nitrofurantoin berbentuk makrohablur juga harus dicantumkan luas permukaan spesifik dan metode yang digunakan pada *Luas permukaan spesifik*.

## KAPSUL NITROFURANTOIN Nitrofurantoin Capsule

Kapsul Nitrofurantoin mengandung Nitrofurantoin,  $C_8H_6N_4O_5$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Nitrofurantoin BPF1**; lakukan pengeringan pada suhu 140° selama 30 menit sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Nitrofurazon BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 1 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Hindarkan paparan sinar matahari langsung, cahaya fluoresensi kuat, panas berlebih dan bahan alkali.

### Identifikasi

A. Pada sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 100 mg nitrofurantoin, tambahkan 10 ml *asam asetat 6 N*, dididihkan beberapa menit, saring selagi panas. Dinginkan

hingga suhu ruang, kumpulkan endapan nitrofurantoin, dan keringkan pada suhu 105° selama 1 jam; spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam minyak mineral P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Nitrofurantoin BPFI.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada Penetapan kadar.

**Disolusi <1231>**

Uji 1 (Jika pada etiket tertera mengandung nitrofurantoin makrohablur)

Media disolusi: 900 ml dapar fosfat pH 7,2 ± 0,05.

Alat tipe 1: 100 rpm.

Waktu: 1, 3 dan 8 jam

Prosedur Lakukan penetapan jumlah nitrofurantoin, C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan Media disolusi dan serapan larutan baku Nitrofurantoin BPFI dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 375 nm.

Toleransi Pada titik pengambilan 1 jam, persentase C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> yang harus larut sesuai dengan Tabel penerimaan 2. Pada titik pengambilan 3 dan 8 jam, persentase C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, yang terlarut harus sesuai dengan kriteria uji akhir pada Tabel penerimaan.

Waktu (jam)	Jumlah terlarut
1	20% - 60%
3	Tidak kurang dari 45%
8	Tidak kurang dari 60%

Uji 2 (Jika pada etiket tertera mengandung nitrofurantoin makrokristal dan bentuk monohidrat)

Media asam: 900 ml asam klorida 0,01 N, selama 1 jam.

Media dapar 7,5 Buat dapar pH 7,5 (Timbang 62,2 g kalium hidroksida P dan 129,3 g kalium fosfat monobasa, larutkan dan encerkan dengan air hingga 1000 ml). Setelah 1 jam, ganti Medium asam dengan Medium dapar 7,5 dengan menambahkan 50 ml dapar pH 7,5 dan lanjutkan pengujian selama 6 jam.

Alat tipe 2: 100 rpm dengan "sinker" yang terbuat dari kawat baja berlapis teflon 20 gauge dengan panjang lebih kurang 13 cm yang dibuat menjadi gulungan dengan panjang lebih kurang 22 mm (lihat Gambar 1).

Waktu : 1, 3 dan 7 jam.

Larutan baku tahap asam Timbang sejumlah Nitrofurantoin BPFI, larutkan dalam Media asam hingga kadar lebih kurang 0,025 mg per ml.

Larutan baku tahap dapar Timbang sejumlah Nitrofurantoin BPFI dalam Media dapar pH 7,5 hingga kadar lebih kurang 0,075 mg per ml.

Prosedur Lakukan penetapan jumlah nitrofurantoin, C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan Media yang sesuai dan serapan larutan baku Nitrofurantoin BPFI yang sesuai dalam Media asam atau Media dapar pH 7,5 pada

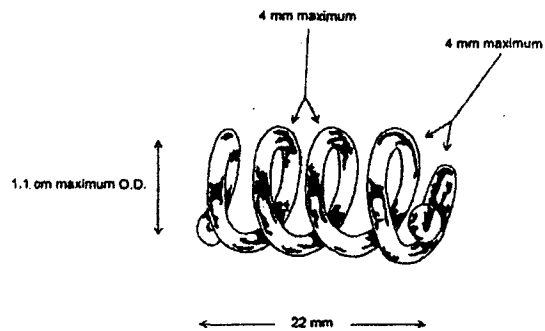
panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 375 nm.

Toleransi Persentase C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> yang harus larut sesuai dengan Tabel penerimaan berikut.

Waktu (jam)	Jumlah zat terlarut (individual)	Jumlah zat terlarut (rata-rata)
1	2% - 16%	5% - 13%
3	27% - 69%	39% - 56%
7	Tidak kurang dari 68%	Tidak kurang dari 81%

Tabel Penerimaan

Tahap	Jumlah uji	Kriteria
L1	12	Rata-rata zat terlarut terletak pada rentang yang ditetapkan pada tiap interval dan pada akhir uji memenuhi tidak kurang dari nilai yang ditetapkan. Semua individual zat terlarut terletak pada rentang yang ditetapkan pada tiap interval dan pada akhir uji semua individual zat terlarut memenuhi tidak kurang dari nilai yang ditetapkan.
L2	12	Rata-rata zat terlarut terletak pada rentang yang ditetapkan pada tiap interval dan pada akhir uji memenuhi tidak kurang dari nilai yang ditetapkan. Tidak lebih 2 dari 24 nilai individual terletak di luar rentang yang ditetapkan pada tiap interval, dan tidak lebih 2 dari 24 nilai individual kurang dari nilai yang ditetapkan.



Gambar 1

Uji 3 (Jika pada etiket tertera mengandung nitrofurantoin makrohablur dan bentuk monohidrat). Jika memenuhi uji ini, pada etiket tercatum memenuhi Uji 3 Disolusi FI.

Media asam, Media dapar 7,5, Alat tipe 2, Larutan baku tahap asam, Larutan baku tahap dapar Lakukan seperti tertera pada Uji 2.



Toleransi Persentase  $C_8H_6N_4O_5$  yang harus larut sesuai dengan Tabel penerimaan 2.

Waktu (jam)	Jumlah zat terlarut (individual)	Jumlah zat terlarut (rata-rata)
1	2% - 16%	5% - 13%
3	50% - 80%	55% - 75%
7	Tidak kurang dari 85%	Tidak kurang dari 90%

Uji 4 (Jika pada etiket dicantumkan mengandung nitrofurantoin makrokristal dan bentuk monohidrat). Jika memenuhi uji ini, pada etiket tercatat memenuhi Uji 4 Disolusi FI.

Media asam 900 ml asam klorida 0,01 N, awaudarakan.

Media dapar pH 7,5 Buat dapar pH 7,5 (Timbang 62,2 g kalium hidroksida P dan 129,3 g kalium fosfat monobasa P, larutkan dan encerkan dengan air hingga 1000 ml). Setelah 1 jam, ganti Medium asam dengan Medium dapar 7,5 dengan menambahkan 50 ml dapar pH 7,5 dan lanjutkan pengujian selama 9 jam.

Alat tipe 2: 100 rpm dengan "sinker helix"

Waktu : 1, 3 dan 10 jam

Larutan baku persediaan Timbang saksama lebih kurang 25 mg Nitrofurantoin BPFi, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml. Tambahkan 7,5 ml dimetilformamida P, sonikasi hingga larut. Dinginkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan dimetilformamida P sampai tanda.

Larutan baku tahap asam Pipet 2 ml Larutan baku persediaan, encerkan dengan Media asam sampai 200 ml.

Larutan baku tahap dapar Pipet 3 ml Larutan baku persediaan, encerkan dengan Media dapar pH 7,5 sampai 100 ml.

Blangko cangkang kapsul tahap asam Tempatkan 10 kapsul kosong bersih dalam labu tentukur 900-ml, tambahkan 800 ml Media asam. Panaskan perlahan pada  $37 \pm 0,5^\circ$ , aduk hingga kapsul terlarut. Dinginkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan Media asam sampai tanda.

Blangko cangkang kapsul tahap dapar Pipet 100 ml Blangko cangkang kapsul tahap asam, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml. Tambahkan 56 ml Media dapar pH 7,5, encerkan dengan Media asam sampai tanda dan campur. Saring, gunakan penyaring yang sama seperti pada Larutan uji.

Larutan uji Saring larutan disolusi melalui penyaring gelas dengan porositas 1,2  $\mu$ m atau polietersulfon dengan porositas 0,45  $\mu$ m, buang beberapa ml filtrat pertama.

Prosedur Lakukan penetapan jumlah nitrofurantoin,  $C_8H_6N_4O_5$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan Media disolusi yang sesuai dan serapan larutan baku Nitrofurantoin BPFi dalam media yang sesuai pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 375 nm menggunakan sel 0,1-cm. Lakukan koreksi dengan mengukur blangko cangkang kapsul yang sesuai menggunakan media yang sesuai.

Toleransi Persentase  $C_8H_6N_4O_5$ , yang terlarut harus sesuai dengan kriteria pada Tabel penerimaan 2.

Waktu (jam)	Jumlah zat terlarut
1	Tidak lebih dari 25%
3	25%-50%
10	Tidak kurang dari 80%

Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat. Lakukan Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan A, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku, Sistem kromatografi dan Prosedur Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan uji Sejumlah isi satu kapsul masukkan dalam wadah yang sesuai, larutkan dan encerkan dalam sejumlah dimetilformamida P hingga diperoleh kadar nitrofurantoin lebih kurang 1,2 mg per ml. Kocok selama 15 menit. [Catatan Jika perlu homogenkan sampel menggunakan "disperser".] Untuk kapsul dengan kekuatan 50 atau 100 mg, pipet 40 ml larutan ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 50,0 ml Larutan baku internal, campur dan dinginkan sampai suhu ruang. Saring sebagian campuran melalui penyaring nilon porositas 0,45  $\mu$ m, buang beberapa ml filtrat pertama. Untuk kapsul dengan kekuatan 25 mg, pipet 20 ml larutan, masukkan dalam labu yang sesuai, tambahkan 25,0 ml Larutan baku internal sebagai pengganti 50,0 ml, selanjutnya lakukan seperti tertera pada kapsul 50 atau 100 mg.

Nitrofurazon Tidak lebih dari 0,01%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan A Lakukan seperti pada Penetapan kadar.

Fase gerak Campuran larutan A-tetrahidrofurana P (9:1).

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Nitrofurazon BPFi, larutkan dan encerkan dengan dimetilformamida P, hingga kadar lebih kurang 5,0  $\mu$ g per ml. Pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu bersumbat kaca, tambahkan 20,0 ml air, campur.

Larutan kesesuaian sistem Timbang saksama sejumlah Nitrofurazon BPFi dan Nitrofurantoin BPFi, larutkan dan encerkan dengan dimetilformamida P, hingga kadar masing-masing 0,5  $\mu$ g per ml. Encerkan larutan dengan Fase gerak (1:10).

Larutan uji Timbang sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 100 mg nitrofurantoin, masukkan dalam labu bersumbat kaca 25 ml, tambahkan 2,0 ml dimetilformamida P, kocok selama 5 menit. Tambahkan 20,0 ml air, campur dan biarkan selama 15 menit. Saring sebagian campuran melalui penyaring nilon porositas 0,45  $\mu$ m.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 375 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1,6 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, atur parameter percobaan

hingga waktu retensi puncak nitrofurantoin lebih kurang 10,5 menit dan tinggi lebih kurang 0,1 skala penuh resolusi; resolusi,  $R$ , antara puncak nitrofurazon dan nitrofurantoin tidak kurang dari 4,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume (60 - 100  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Respons puncak kromatogram *Larutan uji* pada waktu retensi yang sama tidak lebih dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan A* Larutkan 6,8 g kalium fosfat monobasa  $P$  dalam 500 ml air. Atur pH hingga 7,0 dengan penambahan sejumlah volume (lebih kurang 30 ml) natrium hidroksida 1 N, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Campuran *Larutan A-asetonitril P* (22:3).

*Larutan baku internal* Timbang saksama sejumlah asetanilida  $P$ , larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah lebih kurang 50 mg Nitrofurantoin  $BPFI$ , larutkan dalam 40,0 ml dimetilformamida  $P$ , tambahkan 50,0 ml *Larutan baku internal*.

*Larutan uji* Keluarkan secara saksama isi 20 kapsul, masukkan dalam labu tentukur-500 ml. Tempatkan cangkang kapsul pada gelas piala, tambahkan 25 ml dimetilformamida  $P$  dan kocok selama 1 menit. Enaptuangkan ke dalam labu berisi serbuk kapsul. Cuci cangkang kapsul dengan dua kali masing-masing dengan 25 ml dimetilformamida  $P$  dan enaptuangkan ke dalam labu yang sama. Tambahkan dimetilformamida  $P$  secukupnya hingga mendekati 250 ml. Tutup labu, kocok secara mekanik selama 15 menit. Encerkan dengan dimetilformamida  $P$  sampai tanda. Jika perlu lakukan homogenisasi menggunakan dispenser. Saring melalui penyaring porositas sedang ke dalam labu yang sesuai. Pipet sejumlah filtrat setara dengan lebih kurang 50 mg nitrofurantoin ke dalam labu yang sesuai. Tambahkan saksama dimetilformamida  $P$  sehingga diperoleh tepat sejumlah 40,0 ml larutan. Tambahkan 50,0 ml *Larutan baku internal*, campur dan dinginkan hingga suhu ruang. Saring sebagian campuran melalui penyaring nilon porositas 0,45  $\mu$ m, buang beberapa ml filtrat pertama.

*Sistem kromatografi* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi  $L1$ . Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, atur parameter percobaan sehingga waktu retensi puncak nitrofurantoin lebih kurang 8 menit dan tinggi lebih kurang 0,5 skala

penuh. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%, resolusi,  $R$ , antara asetanilida dan nitrofurantoin tidak kurang dari 3,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume (lebih kurang 5 - 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase nitrofurantoin,  $C_8H_6N_4O_5$ , dalam serbuk isi kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_S}{C_U} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

$C_S$  adalah kadar Nitrofurantoin  $BPFI$  dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar nominal dalam mg per ml *Larutan uji*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, simpan pada suhu ruang terkendali.

**Penandaan** Pada etiket harus dicantumkan jika kapsul mengandung nitrofurantoin bentuk makrohablur. Jika digunakan lebih dari satu uji disolusi, pada etiket harus dinyatakan uji disolusi yang digunakan kecuali jika hanya *Uji 1*.

## NITROGLISERIN ENCER Diluted Nitroglycerin



1,2,3-Propanatriol, trinitrat[55-63-0]

$C_3H_5N_3O_9$

BM 227,09

Nitrogliserin Encer adalah suatu campuran nitrogliserin,  $C_3H_5N_3O_9$ , dengan laktosa, dekstrosa, etanol, propilen glikol, atau bahan tambahan inert lainnya yang sesuai untuk penanganan yang aman. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_3H_5N_3O_9$ , dari jumlah yang tertera pada etiket. Biasanya mengandung lebih kurang 10% nitrogliserin.

[Peringatan Lakukan penanganan yang tepat pada nitrogliserin yang tidak diencerkan, karena bersifat sangat mudah meledak dan dapat meledak karena benturan atau panas yang berlebihan. Jangan mengisolasi nitrogliserin ( $C_3H_5N_3O_9$ ).]

**Pemerian** Serbuk putih; tidak berbau jika diencerkan dengan laktosa; larutan jernih, tidak berwarna atau kuning pucat jika diencerkan dengan propilen glikol atau etanol. [Catatan Nitrogliserin yang tidak diencerkan adalah cairan putih hingga kuning pucat, kental, mudah terbakar dan mudah meledak.]

**Kelarutan** Nitrogliserin yang tidak diencerkan sukar larut dalam air; larut dalam metanol, dalam etanol, dalam karbon disulfida, dalam aseton, dalam etil eter, dalam etil asetat, dalam asam asetat glasial, dalam benzen, dalam toluen, dalam nitrobenzen, dalam fenil, dalam kloroform dan dalam metilen klorida.

**Baku pembanding Nitrogliserin Encer BPFI**; [Perhatian Perlakukan dengan hati-hati; dapat meledak karena benturan atau panas yang berlebih.] tidak boleh dikeringkan; tiap ampul mengandung lebih kurang 200 mg dari larutan nitrogliserin 1,00% b/b dalam propilen glikol. Simpan dalam ampul tertutup pada suhu 4°; biarkan pada suhu ruang sebelum membuka ampul. Ketika dibuka, lindungi dari kelembaban dan cahaya, gunakan segera. Buang bagian yang tidak dipakai.

#### Identifikasi

A. Harga  $R_f$  bercak utama pada kromatogram Larutan uji identifikasi sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada uji Kemurnian kromatografi.

B. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada Penetapan kadar.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Campuran toluen P-etil asetat P (4:1).

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Nitrogliserin Encer BPFI, larutkan encerkan secara kuantitatif dalam metanol P hingga kadar setara dengan lebih kurang 400 µg per ml nitrogliserin.

Penampak bercak Larutan difenilamina P dalam metanol P (1 dalam 100).

Larutan uji identifikasi Buat larutan jernih nitrogliserin dalam metanol P hingga kadar setara dengan lebih kurang 400 µg per ml nitrogliserin.

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat setara dengan lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 5-ml. Larutkan (atau suspensikan) dalam metanol P, encerkan dengan metanol P sampai tanda. Jika perlu sentrifus sejumlah larutan untuk mendapatkan cairan jernih.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 20 µl Larutan uji; 5 µl, 10µl, 15 µl, dan 20 µl Larutan baku dan 20 µl Larutan uji identifikasi pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi Fase gerak dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan semprot lempeng dengan Penampak bercak. Amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm selama lebih kurang 15 menit. Rekam kromatogram: tiap bercak selain bercak utama yang diperoleh dari Larutan uji tidak lebih intensif daripada bercak yang diperoleh dari 20 µl Larutan baku. Bandingkan intensitas bercak lain pada kromatogram Larutan uji dengan bercak utama pada Larutan baku (berturut-turut sesuai dengan 0,5%; 1,0%,

1,5% dan 2,0%); jumlah intensitas bercak selain bercak utama yang diperoleh pada Larutan uji tidak lebih dari 3%. [Catatan Nitrat dari gliserin yang khusus berturut-turut mempunyai harga  $R_f$  lebih kurang 0,21; 0,37; dan 0,61 untuk mono-, di- dan tri-substitusi gliserin.]

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Buat campuran metanol P-air (1:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Nitrogliserin Encer BPFI, larutkan dalam Fase gerak hingga kadar nitrogliserin lebih kurang 0,075 mg per ml.

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat uji setara dengan lebih kurang 7,5 mg nitrogliserin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam lebih kurang 75 ml Fase gerak. Jika perlu sonikasikan selama 2 menit atau hingga padatan terdispersi seluruhnya, kemudian kocok secara mekanik selama 30 menit. Encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Jika perlu saring melalui kertas saring 0,7 µm.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1, dan jika perlu gunakan pra-kolom pendek berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 3000 lempeng teoritis; faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nitrogliserin,  $C_3H_5N_3O_9$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar nitrogliserin dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak nitrogliserin dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya dan hindarkan dari panas berlebih, simpan pada 25°, masih diperbolehkan antara 15° dan 30°.

## INJEKSI NITROGLISERIN Nitroglycerin Injection

Injeksi Nitroglicerina adalah larutan steril yang dibuat dari nitroglicerina encer; pelarut dapat mengandung etanol, propilen glikol dan *Air untuk Injeksi*. Injeksi nitroglicerina mengandung nitroglicerina,  $C_3H_5N_3O_9$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Nitroglicerina Encer BPFI**, [Perhatian *Perlakukan dengan hati-hati; dapat meledak karena benturan atau panas yang berlebih.*] tidak boleh dikeringkan; tiap ampul mengandung lebih kurang 200 mg dari larutan nitroglicerina 1,00% b/b dalam propilen glikol. Simpan dalam ampul tertutup pada suhu 4°; biarkan pada suhu ruang sebelum membuka ampul. Ketika dibuka, lindungi dari kelembaban dan cahaya, gunakan segera. Buang bagian yang tidak dipakai. *Endotoksin BPFI*, [Catatan *Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isinya harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi semua isinya, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,1 unit Endotoksin FI per  $\mu$ g nitroglicerina.

**pH <1071>** Antara 3,0 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat dengan menambahkan 5 ml air dan 1 tetes larutan *kalium klorida P* jenuh ke dalam 5 ml injeksi.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Kandungan etanol <1041> Metode II** Antara 90,0% dan 110,0%  $C_2H_5OH$  dari jumlah yang tertera pada etiket; gunakan *isopropil alkohol* sebagai baku internal.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Nitroglicerina encer*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 7,5 mg nitroglicerina, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nitroglicerina,  $C_3H_5N_3O_9$ , dalam injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar nitroglicerina dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak nitroglicerina dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca tipe 1 atau 2.

**Penandaan** Jika perlu pada etiket tertera harus diencerkan sebelum digunakan.

## TABLET NITROGLISERIN Nitroglycerin Tablet

Tablet Nitroglicerina mengandung Nitroglicerina,  $C_3H_5N_3O_9$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Nitroglicerina Encer BPFI** [Perhatian *Perlakukan dengan hati-hati; dapat meledak karena benturan atau panas yang berlebih.*] tidak boleh dikeringkan; tiap ampul mengandung lebih kurang 200 mg dari larutan nitroglicerina 1,00% b/b dalam propilen glikol. Simpan dalam ampul tertutup pada suhu 4°; biarkan pada suhu ruang sebelum membuka ampul. Ketika dibuka, lindungi dari kelembaban dan cahaya, gunakan segera. Buang bagian yang tidak dipakai.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Nitroglicerina Encer BPFI*, larutkan dalam *aseton P* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 1 mg nitroglicerina, masukkan ke dalam wadah bersumbat kaca, tambahkan 1 ml *aseton P*, kocok secara mekanik selama 30 menit, saring.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak campuran *toluen P-etil asetat P-asam asetat glasial P* (16:4:1) hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap, semprot dengan pereaksi *difenilamina P-metanol P* (1:100). Sinari lempeng dengan cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm selama 10 menit. Harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

B. Waktu retensi puncak utama yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku* pada *Penetapan kadar*.

**Waktu hancur** <1251> Tidak lebih dari 2 menit; lakukan penetapan seperti tertera pada *Tablet sublingual*.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat keseragaman kandungan. Kandungan masing-masing dari 10 tablet terletak antara 75,0% dan 135,0% dari yang tertera pada etiket. Jika tidak lebih dari 1 tablet mempunyai kandungan di luar rentang 75,0% dan 135,0% dan tidak ada yang di luar 60,0% dan 150,0%, lakukan lagi uji tambahan 20 tablet. Uji memenuhi syarat jika kandungan masing-masing dari 20 tablet tambahan terletak antara 75,0% dan 135,0% dari yang tertera pada etiket.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Nitrogliserin encer*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 7,5 mg nitrogliserin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 80 ml *Fase gerak*. Sonikasikan selama 2 menit atau sampai serbuk terdispersi sempurna, kemudian kocok secara mekanik selama 30 menit. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Jika perlu saring melalui kertas saring 0,7 µm.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg nitrogliserin, C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>, dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

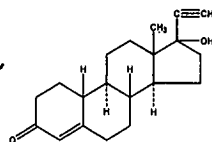
C adalah kadar nitrogliserin dalam mg per ml *Larutan baku*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak nitrogliserin yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, sebaiknya dari kaca, pada suhu ruang terkendali. Tiap wadah berisi tidak lebih dari 100 tablet.

## NORETISTERON

Noretindron

Norethindrone



17-Hidroksi-19-nor-17α-pregna-4-en-20-in-3-on [68-22-4]  
C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub> BM 298,42

Noretisteron mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai putih krem; tidak berbau; stabil di udara.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; larut dalam kloroform dan dalam dioksan; agak sukar larut dalam etanol; sukar larut dalam eter.

**Kesempurnaan melarut** Larutan untuk uji rotasi jenis, jernih dan bebas padatan yang tidak larut.

**Baku pembanding** *Noretisteron BPFI*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Noretisteron BPFI*.

**Jarak lebur** <1021> Antara 202° dan 208°.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -30° dan -38°; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 200 mg per 10 ml *dioksan P*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 105° selama 3 jam.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Campuran kloroform P-metanol P (95:5).  
*Penampak bercak* Campuran metanol P-asam sulfat P (7:3).

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam kloroform P hingga kadar 10 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Noretisteron BPFI*, larutkan dalam kloroform P hingga kadar 10 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Buat satu seri pengenceran *Larutan baku A, B, C dan D* dalam kloroform P hingga kadar berturut-turut 150 µg; 50 µg; 30 µg dan 10 µg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing dua kali, tiap kali 5 µl *Larutan uji dan Enceran larutan baku A, B, C dan D* pada jarak yang sama 2,5 cm dari tepi lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga 15 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan fase gerak menguap. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak*, kemudian panaskan pada suhu 100° selama 5 menit. Harga R<sub>f</sub> bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan harga R<sub>f</sub> bercak utama *Enceran larutan baku A*. Intensitas bercak lain *Larutan uji*

tidak lebih kuat dari intensitas bercak *Enceran larutan baku B* (0,5%). Jumlah intensitas semua bercak lain *Larutan uji* tidak lebih intensif dari bercak *Enceran larutan baku A* (1,5%).

**Gugus etinil** Tidak kurang dari 8,18% dan tidak lebih dari 8,43%; lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 200 mg zat dalam lebih kurang 40 ml *tetrahidrofuran P*, tambahkan 10 ml larutan *perak nitrat P* (1 dalam 10). Titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*; tetapkan titik akhir secara potensiometri menggunakan elektrode kalomel dan kaca dengan elektrolit larutan kalium nitrat. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,1 N*  
setara dengan 2,503 mg gugus etinil,  $-C\equiv CH$

**Penetapan kadar**

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *etanol P*, hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Noretisteron BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *etanol P*, hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 240 nm menggunakan *etanol P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg *noretisteron*,  $C_{20}H_{26}O_2$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$10C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Noretisteron BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**TABLET NORETISTERON**

**Tablet Noretindron**  
**Norethindrone Tablet**

Tablet *Noretisteron* mengandung *noretisteron*,  $C_{20}H_{26}O_2$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Noretisteron BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Campur sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg *noretisteron* dengan 15 ml *heksan P*, aduk sesekali selama 15 menit. Sentrifus, enaptuangkan dan buang larutan *heksan*. Ekstraksi residu dua kali, tiap kali dengan 10 ml *heksan P*. Sentrifus, enaptuangkan dan buang larutan *heksan*. Tambahkan 25 ml *kloroform P* pada residu, kocok selama 1 - 2 menit,

dan saring. Uapkan hingga lebih kurang 3 ml, tambahkan beberapa ml *heksan P* untuk mempercepat pengabluran, dan uapkan hingga kering. Spektrum serapan inframerah residu yang telah didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Noretisteron BPFi*.

**Disolusi** <1231> *Uji 1 Media disolusi*: 500 ml *natrium lauril sulfat P* 0,09% dalam *asam klorida 0,1 N*.

*Alat tipe 2*: 7 rpm

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{20}H_{26}O_2$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran *air-asetonitril P* (3:2), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 35 mg *Noretisteron BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml, tambahkan 100 ml *metanol P* dan sonikasi sampai terlarut sempurna. Dinginkan hingga suhu ruang. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

*Larutan uji* Saring larutan disolusi melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Kromatograf* cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase *noretisteron*,  $C_{20}H_{26}O_2$ , yang terlarut dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C_S}{LC} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) 100$$

500 adalah volume dalam ml *Media disolusi*; *C<sub>S</sub>* adalah kadar *Noretisteron BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *LC* adalah jumlah *noretisteron* dalam mg yang tertera pada etiket; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*; 100 adalah faktor konversi persentase.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{20}H_{26}O_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

*Uji 2* Jika sediaan memenuhi uji ini, pada etiket harus dicantumkan memenuhi *Uji 2 Disolusi FI*.

*Media disolusi:* 500 ml natrium lauril sulfat P 0,09% dalam asam klorida 0,1 N.

*Alat tipe 2:* 75 rpm

*Waktu:* 45 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{20}H_{26}O_2$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *dapar fosfat* 0,02 M pH 6,0-asetonitril P (65:35), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 14 mg *Noretisteron BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 20 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

*Larutan uji* Saring larutan disolusi melalui penyaring dengan porositas 0,45  $\mu$ m atau sentrifus paling sedikit 10 ml larutan disolusi dan gunakan beningan.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Gunakan salah satu sistem berikut.

*Sistem kromatografi 1* Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 200 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit.

*Sistem kromatografi 2* Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 240 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3 atau 3,5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit.

Gunakan salah satu *Sistem kromatografi*, lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada *Uji 1* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase noretisteron,  $C_{20}H_{26}O_2$ , yang terlarut dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C_s}{LC} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right) 100$$

500 adalah volume dalam ml *Media disolusi*;  $C_s$  adalah kadar *Noretisteron BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *LC* adalah jumlah noretisteron dalam mg yang tertera pada etiket;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{20}H_{26}O_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

#### Penetapan kadar

*Pereaksi isoniazid* Larutkan 1,0 g *isoniazid P* dalam 1000 ml *metanol anhidrat P*, tambahkan 1,3 ml *asam klorida P*, dan campur.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 0,7 mg noretisteron, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan *metanol anhidrat P* sampai tanda. Campur dan biarkan selama 10 menit sambil sesekali dikocok, dan saring. Pada 10,0 ml filtrat tambahkan 2,0 ml *Pereaksi isoniazid*, campur, tutup dan biarkan selama 30 menit.

*Larutan blangko uji* Pada 10,0 ml filtrat *Larutan uji* tambahkan 2,0 ml *metanol P*, dan campur.

*Larutan blangko pereaksi* Pada 10,0 ml *metanol P* tambahkan 2,0 ml *Pereaksi isoniazid*, campur, tutup dan biarkan selama 30 menit.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Noretisteron BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 14  $\mu$ g per ml. Pada 10,0 ml larutan ini tambahkan 2,0 ml *Pereaksi isoniazid*. Campur, tutup dan biarkan selama 30 menit.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan blangko uji* menggunakan *metanol P* sebagai blangko, kemudian ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* menggunakan *Larutan blangko pereaksi* sebagai blangko pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 380 nm menggunakan sel 1-cm. Hitung jumlah dalam mg noretisteron,  $C_{20}H_{26}O_2$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

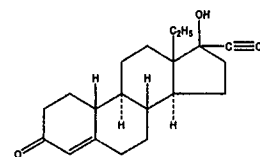
$$0,05 C \left( \frac{A_u - A_B}{A_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Noretisteron BPF1* dalam  $\mu$ g per ml *Larutan baku*;  $A_u$ ,  $A_B$  dan  $A_s$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji*, *Larutan blangko uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## NORGESTREL

### Norgestrel



(±)-13-Etil-17-hidroksi-18,19-dinor-17 $\alpha$ -pregn-4-en-20-in-3-on [6533-00-2]

$C_{21}H_{28}O_2$

BM 312,45

Norgestrel mengandung, tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{21}H_{28}O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau praktis putih; praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; mudah larut dalam kloroform; agak sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding Norgestrel BPFi**; Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi Spektrum serapan inframerah** zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Norgestrel BPFi. Jika terdapat perbedaan, larutkan zat uji dan baku pembanding dalam etil asetat P, uapkan larutan di atas tangas uap sampai kering, ulangi uji menggunakan residu bebas pelarut.

**Jarak lebur <1021> Metode I** Antara 205° dan 212°; jarak antara awal dan akhir peleburan tidak lebih dari 4°.

**Rotasi optik <1081>** Antara -0,1° dan +0,1°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan 5% dalam kloroform P dalam tabung 100 mm.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,3%.

**Kemurnian kromatografi** Tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti yang pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Campuran kloroform P-etanol P (96:4).

*Pereaksi asam fosfomolibdat* Tambahkan 10 g asam fosfomolibdat P pada 100 ml etanol P, aduk campuran selama tidak kurang dari 30 menit. Saring sebelum digunakan.

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat, larutkan dalam kloroform P hingga kadar 10,0 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang sejumlah Norgestrel BPFi larutkan dalam kloroform P hingga kadar 10 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Buat satu seri enceran Larutan baku dengan kloroform P dengan kadar 0,20; 0,10; 0,05; 0,02; dan 0,01 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl Larutan baku, Larutan uji dan lima Enceran larutan baku pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm yang sebelumnya telah diaktifkan dengan memanaskan pada suhu 100° selama 15 menit. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi Fase gerak, biarkan merambat hingga 15 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan fase gerak menguap, Semprot dengan Pereaksi asam fosfomolibdat, panaskan pada suhu 105° selama 10 - 15 menit. Harga R<sub>f</sub> bercak utama Larutan uji sesuai dengan harga R<sub>f</sub> dari Larutan baku. Jika terdapat bercak lain kecuali bercak utama pada Larutan uji, perkirakan kadar masing-masing dengan membandingkan terhadap Enceran larutan baku. Bercak yang diperoleh dari 0,20 mg; 0,10 mg; 0,05 mg; 0,02 mg dan 0,01 mg per ml Enceran larutan baku setara

dengan berturut-turut 2,0%; 1,0%; 0,5%; 0,2% dan 0,1% cemaran.

**Gugus etinil** Tidak kurang dari 7,81% dan tidak lebih dari 8,18%; lakukan penetapan seperti tertera pada uji Gugus etinil dalam Noretisteron.

#### Penetapan kadar

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dalam etanol P, jika perlu encerkan secara bertahap dengan etanol P hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Norgestrel BPFi, larutkan dalam etanol P, jika perlu encerkan secara bertahap dengan etanol P hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Prosedur* Ukur serapan Larutan baku dan Larutan uji pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 241 nm terhadap blangko etanol P. Hitung jumlah dalam mg norgestrel, C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

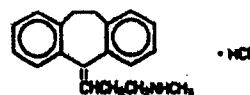
$$10C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar Norgestrel BPFi dalam µg per ml Larutan baku; A<sub>U</sub> dan A<sub>S</sub> berturut-turut adalah serapan Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## NORTRIPTILIN HIDROKLORIDA

### Nortriptyline Hydrochloride



10,11-Dihidro-N-metil-5H-dibenzo[a,d]sikloheptena-Δ5,γ-propilamina hidroklorida [894-71-3]

C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N.HCl

BM 299,84

Nortriptylin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,5% C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N.HCl dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian Serbuk**; putih hingga hampir putih; bau khas lemah. Larutan (1 dalam 100) mempunyai pH lebih kurang 5.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam kloroform; agak sukar larut dalam metanol; praktis tidak larut dalam eter, dalam benzen dan dalam pelarut organik lainnya.

**Baku pembanding Nortriptylin Hidroklorida BPFi**; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.



### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan dilarutkan dalam *kloroform P* (1 dalam 20) menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Nortriptilin Hidroklorida BPFI*;

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan zat yang telah dikeringkan dalam *metanol P* (1 dalam 100.000) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Nortriptilin Hidroklorida BPFI*; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 239 nm, berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A*, *B*, dan *C* seperti tertera pada *Uji identifikasi umum <291>*.

**Titik lebur <1021> Metode I** Antara 215° dan 220°; titik antara awal dan akhir melebur tidak lebih dari 3°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran *asetonitril P-metanol P-ammonium hidroksida P* (10:1:1).

*Penampak bercak* Gunakan *Dragendroff LP*

*Larutan baku A* Timbang saksama sejumlah *Nortriptilin Hidroklorida BPFI*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 25 mg per ml.

*Larutan baku B, C, D, E, F* Encerkan *Larutan baku A* dengan *metanol P* hingga kadar berturut-turut 125; 75; 50; 25 dan 12,5 µg per ml. Kadar akhir *Larutan baku B, C, D, E, dan F* berturut-turut adalah 0,5%; 0,3%; 0,2%; 0,1%; dan 0,05% dari *Larutan baku A*.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml. larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan baku A, B, C, D, E, dan F*, seperti tertera pada *Cemaran umum <481>*. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi *silika gel P* yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*. Biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng, angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan lempeng. Amati lempeng pada cahaya UV 254 nm, kemudian semprot dengan *Penampak bercak*, keringkan lempeng dengan *nitrogen P* dan semprot dengan *hidrogen peroksida LP*: bercak lain dengan harga *R<sub>f</sub>* 0,78 relatif terhadap bercak nortriptilin pada *Larutan uji* tidak lebih besar dari bercak utama pada *Larutan baku D*; bercak lain pada *Larutan uji* tidak lebih besar dari 0,1% dan total bercak lain tidak lebih dari 0,5%.

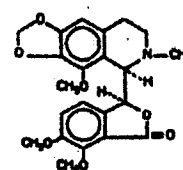
**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 600 mg zat, larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 10 ml *raksa(II) asetat LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 29,98 mg C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N.HCl

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat.

### NOSKAPIN

Noscapine



*Narkotin* [128-62-1]  
C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>

BM 413,42

Noskapin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur halus; putih atau praktis putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam kloroform; larut dalam aseton; sukar larut dalam etanol dan dalam eter; praktis tidak larut dalam air.

**Baku pembanding** *Noskapin BPFI*; tidak boleh dikeringkan; tetapkan kadar air pada waktu digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Noskapin BPFI*;

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (60 µg per ml) dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Noskapin BPFI*.

C. Pada lebih kurang 100 mg zat dalam cawan porselen kecil, tambahkan beberapa tetes *asam sulfat P*, dan aduk: terjadi larutan berwarna kuning kehijauan, dan pada penghangatan menjadi merah kemudian berubah menjadi ungu.

**Suhu lebur <1021>** Antara 174° dan 176°.

**Rotasi jenis <1081>** Antara +42° dan +48°, dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan

larutan yang mengandung 200 mg zat per 10 ml dalam asam klorida 0,1 N.

Air <1031> Metode I Tidak lebih dari 1,0%.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Klorida <361> Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan menggunakan 700 mg zat dan bandingkan kekeruhan dengan 0,20 ml asam klorida 0,020 N.

Morfin Larutkan 100 mg zat dalam 10 ml asam klorida 0,1 N. Pada 1,0 ml larutan ini tambahkan 5,0 ml pereaksi besi(III) sianida encer yang dibuat sebagai berikut: larutkan 500 mg kalium besi(III) sianida P dalam 50 ml air, tambahkan 0,50 ml besi(III) klorida LP, encerkan 5,0 ml larutan ini secukupnya hingga 25,0 ml): tidak boleh terjadi warna biru atau hijau tua dalam waktu 1 menit.

Cemaran umum <481>

Larutan uji Gunakan pelarut kloroform P.

Larutan baku Gunakan pelarut kloroform P.

Fase gerak Campuran etil asetat P-eter P (80:20).

Penampak bercak Gunakan teknik penampak bercak nomor 17; amati lempeng dengan segera.

Batas Jumlah intensitas semua bercak lain Larutan uji tidak lebih dari 1,0%.

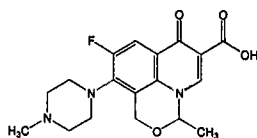
Penetapan kadar Timbang saksama lebih kurang 1,5 g zat, larutkan dalam 25 ml asam asetat glasial P, tambahkan 25 ml dioksan P. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV, menggunakan indikator 5 tetes kristal violet LP hingga terjadi warna biru. Lakukan penetapan blanko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 41,34 mg  $C_{22}H_{23}NO_7$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik.

## OFLOKSASIN

### Ofloxacin



Asam ( $\pm$ )-9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-okso-7H-pirido [1,2,3-de]-1,4-benzoksasin-6- karboksilat [82419-36-1].

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$

BM 361,38

Ofloksasin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5%  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Hablur atau serbuk hablur; putih kekuningan pucat sampai putih kekuningan terang.

Kelarutan Sukar larut dalam etanol, dalam metanol, dan dalam air; agak sukar larut dalam kloroform.

Baku pembanding Ofloksasin BPF<sub>I</sub>, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Senyawa Sejenis A Ofloksasin BPF<sub>I</sub>.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Ofloksasin BPF<sub>I</sub>.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 6,7  $\mu$ g per ml dalam asam klorida 0,1 N, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Ofloksasin BPF<sub>I</sub>.

Rotasi jenis <1081> Antara +1° dan -1°; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml dalam kloroform P.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,2%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Arsen <321> Metode II Tidak lebih dari 1 bpj.

Logam berat <371> Metode III Tidak lebih dari 10 bpj.

Senyawa sejenis Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,3%; dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Pengencer Campuran air-asetonitril P (6:1).

Fase gerak Larutkan 4 g amonium asetat P dan 7 g natrium perklorat P dengan 1300 ml air, atur pH hingga 2,2 dengan penambahan asam fosfat P dan tambahkan dengan 240 ml asetonitril P, saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan kesesuaian sistem Timbang masing-masing lebih kurang 10 mg Ofloksasin BPF<sub>I</sub> dan Senyawa Sejenis A Ofloksasin BPF<sub>I</sub>, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml yang kedua, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Ofloksasin BPF<sub>I</sub>, larutkan dan encerkan dengan Pengencer secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 0,4  $\mu$ g per ml.

Larutan uji Larutkan sejumlah zat dalam Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi

dilengkapi dengan detektor 294 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi *LI*, pertahankan suhu pada 45°. Laju alir lebih kurang 0,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara ofloksasin dan senyawa sejenis A ofloksasin tidak kurang dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram hingga 2,5 kali waktu retensi puncak ofloksasin dan ukur respons dari semua puncak setelah puncak pelarut. Hitung persentase masing-masing cemaran dengan respons puncak yang lebih besar dari 0,1 respons puncak rata-rata *Ofloksasin BPFi* dari *Larutan baku* dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C}{C_u} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Ofloksasin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *C<sub>u</sub>* adalah kadar ofloksasin dalam mg per ml *Larutan uji*; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dalam *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak *Larutan baku*.

**Metanol dan etanol** Metanol tidak lebih dari 0,005% dan etanol tidak lebih dari 0,05%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku internal* Buat larutan *n-propilalkohol P* 0,7 µl per ml dalam *natrium hidroksida P* 1%. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan larutan *natrium hidroksida P* 1% sampai tanda.

*Larutan baku* Buat larutan *metanol P* dan *etanol mutlak P* 10 µg per ml dalam *Larutan baku internal*. Masukkan 2 ml ke dalam vial tertutup. Panaskan vial pada 90° selama 2 menit, kocok selama 6 menit.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 40 mg zat ke dalam vial tertutup, tambahkan 2 ml *Larutan baku internal*. Panaskan vial pada 90° selama 2 menit, kocok selama 6 menit.

*Blangko* Masukkan 2 ml *Larutan baku internal* ke dalam vial tertutup. Panaskan vial pada 90° selama 2 menit, kocok selama 6 menit.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom leburan silika 0,53 mm x 30 m berisi fase diam *G43* dengan ukuran partikel 3,0 µm dan prakolom leburan silika. Pertahankan suhu injektor pada 170° dan suhu detektor pada 250°. Kolom dikondisikan pada suhu 200° selama 2 jam sampai garis dasar stabil. Suhu kolom diatur dengan kenaikan suhu 20° per menit mulai 35° - 90°, 40° per menit dari 90° - 200°, pertahankan suhu selama 2 menit. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 7 ml

per menit. Lakukan kromatografi dengan sistem injeksi "headspace" terhadap *Larutan baku*, rekam kromatografi dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif metanol, etanol dan *n-propilalkohol* berturut-turut adalah 0,5; 0,6 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak metanol dan etanol tidak kurang dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

*Prosedur* Gunakan vial untuk injeksi "headspace". Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1,0 ml) *Larutan baku*, *Blangko* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase metanol dan etanol dalam zat dengan rumus:

$$\left( \frac{2}{W} \right) \left( \frac{R_U - R_B}{R_S - R_B} \right)$$

*W* adalah bobot dalam mg zat yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *R<sub>U</sub>*, *R<sub>B</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut turut adalah perbandingan respons puncak dari etanol terhadap baku internal dalam *Larutan baku*, *Blangko* dan *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dalam 275 ml *asetat anhidrat P* dalam gelas piala 400 ml, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik menggunakan elektroda kaca-perak klorida (Lihat *Titrimetri <711>*). Gunakan loncatan pertama dari dua loncatan potensial. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 36,138 mg *C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan pada suhu antara 15° dan 30°.

### TABLET OFLOKSASIN Ofloxacin Tablet

Tablet Ofloksasin mengandung Ofloksasin, *C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>*, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Ofloksasin BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat* Larutkan 2,72 g kalium fosfat monobasa P dalam 1000 ml air. Atur pH hingga 3,3±0,1 dengan penambahan asam fosfat encer LP.

*Larutan A* Buat campuran *Dapar fosfat-asetonitril P* (88:12), saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Buat campuran *Dapar fosfat-asetonitril P* (40:60), saring dan awaudarakan.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*, jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ofloksasin BPFi*, larutkan dan jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *methanol P* hingga kadar lebih kurang 4 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg ofloksasin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 70 ml *metanol P*, sonikasi selama 20 menit. Encerkan dengan *methanol P* sampai tanda. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm atau lebih kecil, buang 5 ml filtrat pertama.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 294 nm dan kolom 4,6 mm x 10 cm yang berisi bahan pengisi LI dan laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0 – 8	100	0	Isokratik
8 – 25	100 → 40	0 → 60	Gradien linier
25 – 26	40 → 100	60 → 0	Gradien linier
26 – 40	100	0	Isokratik

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) \left( \frac{C_S}{C_U} \right)$$

F adalah faktor respons relatif dari masing-masing cemaran;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut turut adalah respons puncak cemaran *Larutan uji* dan *Larutan baku*;  $C_S$  adalah kadar *Ofloksasin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku* dan  $C_U$  adalah kadar ofloksasin dalam mg per ml dalam *Larutan uji* seperti tertera pada etiket. Masing-masing cemaran dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel* sebagai berikut:

Tabel

Cemaran	Waktu Retensi Relatif	Respons Faktor Relatif	Batas (%)
Cemaran A (asam 2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-piperazinil)-7-okso-7H-pirido[1,2,3-de]-1,4-benzoksasin-6- karboksilat)	0,5	1	0,3
Cemaran B (asam 9,10-difluoro-3-metil-7-okso-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-de]-1,4-benzoksasin-6- karboksilat)	3,6	0,22	0,3
Cemaran lain	-	1	0,2
Jumlah semua cemaran	-	-	1,0

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat* Larutkan 2,72 g kalium fosfat monobasa P dalam 1000 ml air, atur pH hingga 3,3±0,1 dengan penambahan asam fosfat encer LP.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar fosfat-asetonitril P* (88:12), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer 1* Campuran metanol P-asam asetat glacial P (75:25).

*Pengencer 2* Campuran air-asetonitril P (90:10).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ofloksasin BPHI*, larutkan dengan *Pengencer 1* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml, kemudian encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer 2* hingga kadar lebih kurang 20 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan 100 mg ofloksasin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 70 ml *Pengencer 1*, sonikasi selama 20 menit dan encerkan dengan *Pengencer 1* sampai tanda. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm atau lebih kecil. Masukkan 2,0 ml filtrat ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan *Pengencer 2* sampai tanda.

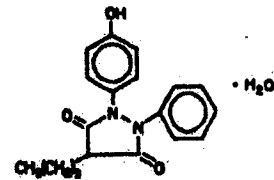
*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 294 nm dan kolom 4,6 mm x 10 cm yang berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur *Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, ofloksasin, C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$5000C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Ofloksasin BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, pada suhu ruang terkendali.

## OKSIFENBUTAZON Oxyphenbutazone



4-Butil-1-(p-hidroksifenil)-2-fenil-3,5-pirazolidinadion monohidrat [7081-38-1]  
C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O  
Anhidrat [129-204]

BM 342,39  
BM 324,38

Oksifenbutazon mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5%, C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai putih kekuningan pucat sampai putih kekuningan; tidak berbau. Melebur pada suhu antara lebih kurang 85° dan 100°.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; larut dalam etanol; mudah larut dalam aseton dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Oksifenbutazon BPHI*, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dalam desikator dengan pengering yang sesuai dan dilarutkan dalam metilen klorida P (1 dalam 50) menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Oksifenbutazon BPHI*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 100.000) dalam natrium hidroksida 0,01 N, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Oksifenbutazon BPHI*: daya serap masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 254 nm berbeda tidak lebih dari 2,0%.

C. Larutkan lebih kurang 20 mg dalam 2 ml metanol P, tambahkan 3 ml Millon LP: terbentuk endapan yang berwarna merah ceri, jika campuran dipanaskan.

**Air <1031> Metode I** Antara 5,0% dan 6,0%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Klorida** Didihkan 1 g zat dengan 20 ml air selama 5 menit, dinginkan dan saring. Jika filtrat tidak jernih, tambahkan beberapa mg talk, didihkan kembali, dinginkan dan saring. Pada 1 ml filtrat tambahkan 1 ml asam nitrat 2,5 N dan 1 ml perak nitrat LP: tidak terjadi opalesensi.

**Kemurnian kromatografi** [Catatan Lakukan uji ini tanpa penundaan.] Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada kromatografi <931>.

**Larutan asam askorbat** Larutkan 1,5 g asam askorbat P dan 20 mg hidrositoluen terbutilasi P dalam 100 ml etanol P dengan penghangatan di atas tangas uap.

**Larutan baku** Timbang sejumlah Oksifenbutazon BPFI, larutkan dalam Larutan asam askorbat, hingga kadar 0,80 mg per ml.

**Enceran larutan baku** Buat satu seri pengenceran Larutan baku dalam metanol P hingga kadar sebagai berikut: 400 µg, 200 µg, 100 µg dan 50 µg per ml.

**Larutan uji** Campur 100 mg dengan 5,0 ml Larutan asam askorbat dalam tabung sentrifuga 10 ml. Kocok secara mekanik selama 30 menit, sentrifus dan gunakan beningan tanpa penundaan.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl Larutan uji, Larutan baku dan Enceran larutan baku pada lempeng silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi fase gerak campuran 80 ml kloroform P, 20 ml asam asetat glasial P dan 20 mg hidrositoluen terbutilasi P hingga fase gerak merambat tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng dan biarkan kering. Amati bercak di bawah cahaya ultraviolet 254 nm; intensitas bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari Larutan uji, bandingkan dengan intensitas bercak utama Larutan baku. Jumlah intensitas bercak lain dari Larutan Uji tidak lebih dari 1,0%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 100 ml metanol P, titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV, tetapkan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan sistem elektrode kalomel-kaca dengan jembatan garam kalium klorida P jenuh dengan metanol P. Lakukan penetapan blanko.

Tiap ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 32,44 mg  $C_{19}H_{20}N_2O_3 \cdot H_2O$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## OKSIGEN Oxygen

Oksigen [7782-44-7]

O<sub>2</sub>

BM 32,00

Oksigen mengandung tidak kurang dari 99,0% O<sub>2</sub> dalam volume.

[Catatan Oksigen yang dihasilkan dari pencairan udara, bebas dari persyaratan uji untuk Karbon dioksida dan Karbon monoksida.]

**Pemerian Gas** tidak berwarna; tidak berbau; tidak berasa; daya membakar lebih besar dari pada udara. Bobot 1 l pada suhu 0° dan tekanan 760 mmHg lebih kurang 1,429 g.

**Kelarutan** Larut dalam lebih kurang 32 bagian air dan dalam 7 bagian etanol pada suhu 20° dan tekanan 760 mmHg.

### Identifikasi

A. Jika diuji seperti tertera pada Penetapan kadar gas yang tertinggal tidak lebih dari 1,0 ml.

B. Alirkan 100 ml±5 ml gas dari tabung oksigen ke dalam tabung detektor karbon dioksida pada kecepatan tertentu: tidak terjadi perubahan warna. (Untuk membedakan dari karbon dioksida).

**Bau** Buka katup wadah dengan hati-hati hingga diperoleh aliran sedang; tidak boleh mengarahkan aliran gas langsung ke wajah, tetapi arahkan sebagian aliran ke hidung: bau tidak tajam.

**Karbon dioksida** Tidak lebih dari 0,03%; lakukan penetapan dengan mengalirkan 1000±50 ml ke dalam tabung detektor karbon dioksida pada kecepatan tertentu: terjadi perubahan pada penunjuk.

**Karbon monoksida** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan dengan mengalirkan 1000±50 ml ke dalam tabung detektor karbon monoksida pada kecepatan tertentu: terjadi perubahan pada penunjuk.

**Penetapan kadar** Masukkan sejumlah volume larutan amonium klorida-amonium hidroksida LP, yang dibuat dengan mencampur volume sama banyak air dan amonium hidroksida P, dan jenuhkan dengan amonium klorida P pada suhu ruang. Ke dalam alat uji yang terdiri dari buret 100-ml yang telah dikalibrasi, dilengkapi dengan kran dua arah, pipet absorpsi gas dan pelampung, keduanya dengan kapasitas dan sambungan yang sesuai. Isi pipet absorpsi gas dengan logam tembaga berbentuk kawat kumparan, dengan ukuran mesh atau ukuran lain yang sesuai. Hilangkan semua gelembung gas dari cairan dalam alat uji. Aktifkan larutan uji dengan melakukan pengujian 2 sampai 3 kali, tidak untuk dicatat. Isi dengan cairan buret yang telah dikalibrasi, semua pipa penghubung, kedua arah kran pembuka, dan pipa penghubung.

**Prosedur** Alirkan 100,0 ml oksigen ke dalam buret dengan cara menurunkan pelampung. Buka kran yang berhubungan dengan pipet absorpsi. Dengan cara menaikkan pelampung. Oksigen ditekan masuk ke dalam pipet absorpsi. Goyangkan pipet dengan kuat hingga sering terjadi kontak yang merata antara cairan, gas dan kawat tembaga. Lanjutkan penggoncangan yang kuat hingga tidak terjadi penyusutan volume lebih lanjut. Alirkan kembali sisa gas ke dalam buret yang telah dikalibrasi dan ukur volume: tidak lebih dari 1,0 ml gas yang tertinggal.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tabung atau dalam tangki bertekanan. Wadah yang digunakan harus bebas dari setiap zat toksik, penyebab tidur, atau senyawa penyebab narkosis, dan senyawa yang dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan.

[Catatan Jika disimpan dalam silinder, kurangi tekanan dalam wadah menggunakan pengatur aliran gas. Ukur gas menggunakan volume meter gas dengan arah ke bawah dari tabung detektor untuk memperkecil kontaminasi atau perubahan pada contoh.]

## OKSIGEN 93%

### Oxygen 93%

Oksigen 93% mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 96,0% O<sub>2</sub> dalam volume, dihasilkan dari udara melalui proses penyaringan molekul; yang tertinggal sebagian besar terdiri dari argon dan nitrogen.

### Identifikasi

A. Jika diuji seperti tertera pada *Penetapan kadar*, gas yang tertinggal tidak lebih dari 10,0 ml dan tidak kurang dari 4,0 ml.

B. Alirkan 100±5 ml gas dari tabung oksigen 93% ke dalam tabung detektor karbon dioksida pada kecepatan tertentu; tidak terjadi perubahan warna (untuk membedakan dari karbon dioksida).

**Bau** Buka katup wadah atau sistem saluran keluar dengan hati-hati hingga diperoleh aliran sedang. Tidak boleh mengarahkan aliran gas langsung ke wajah, tetapi arahkan sebagian aliran ke hidung; tidak berbau.

**Karbon dioksida** Tidak lebih dari 0,03%; lakukan penetapan dengan mengalirkan 1000±50 ml ke dalam tabung detektor karbon dioksida pada kecepatan tertentu; terjadi perubahan indikator.

**Karbon Monoksida** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan dengan mengalirkan 1000±50 ml ke dalam tabung detektor karbon monoksida pada kecepatan tertentu; terjadi perubahan indikator.

**Penetapan kadar** Masukkan sejumlah volume larutan amonium klorida-amonium hidroksida LP yang dibuat dengan campuran volume sama banyak air dan amonium hidroksida P, dan jenuhkan dengan amonium klorida P pada suhu ruang, ke dalam alat uji yang terdiri dari buret 100 ml yang telah dikalibrasi, dilengkapi dengan sebuah kran dua arah, pipet absorpsi gas, dan pelampung, keduanya dengan kapasitas dan sambungan yang sesuai. Isi pipet absorpsi gas dengan logam tembaga berbentuk kumparan kawat, dengan ukuran mesh atau ukuran lain yang sesuai. Hilangkan semua gelembung gas dari cairan pada alat uji. Aktifkan larutan uji dengan melakukan pengujian 2 sampai tiga kali, tidak untuk dicatat. Isi dengan cairan buret yang telah dikalibrasi, semua pipa

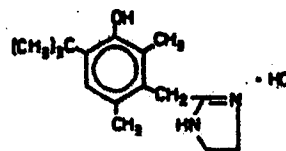
penghubung, ke dua arah kran pembukan, dan tabung pengisi.

*Prosedur* Alirkan 100,0 ml oksigen ke dalam buret dengan cara menurunkan pelampung. Buka kran yang berhubungan dengan pipet absorpsi. Dengan cara menaikkan pelampung, oksigen 93% ditekan masuk ke dalam pipet absorpsi. Goyangkan pipet dengan kuat hingga sering terjadi kontak yang merata antara cairan, gas dan kawat tembaga. Lanjutkan penggoncangan yang kuat hingga tidak terjadi penyusutan volume lebih lanjut. Alirkan kembali sisa gas ke dalam buret yang telah dikalibrasi, dan ukur volume: tidak lebih dari 10,0 ml dan tidak kurang dari 4,0 ml gas yang tertinggal.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tabung atau tangki bertekanan rendah. Wadah yang digunakan harus bebas dari setiap zat toksik, penyebab tidur, atau senyawa penyebab narkosis, atau senyawa yang dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan.

[Catatan Jika disimpan dalam silinder, kurangi tekanan dengan menggunakan pengatur aliran gas. Ukur gas menggunakan volume meter gas dengan arah ke bawah dari tabung detektor untuk memperkecil kontaminasi atau perubahan pada contoh.]

## OKSIMETAZOLIN HIDROKLORIDA Oxymetazoline Hydrochloride



6-tert-Butil-3-(2-imidazolin-2-ilmetil)-2,4-dimetilfenol  
monohidroklorida [2315-02-8]

C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O.HCl

BM 296,84

Oksimetazolin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O.HCl, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur halus, putih sampai praktis putih; higroskopik. Melebur pada suhu lebih kurang 300° disertai penguraian.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam etanol; praktis tidak larut dalam benzen, dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** Oksimetazolin Hidroklorida BPHI; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam minyak mineral P; menunjukkan maksimum hanya pada bilangan

gelombang yang sama seperti pada *Oksimetazolin Hidroklorida BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 10.000) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Oksimetazolin Hidroklorida BPFi*, daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 279 nm: berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Pada larutan lebih kurang 50 mg zat dalam 3 ml air tambahkan 1 ml *amonium hidroksida 6 N*, saring, asamkan filtrat dengan *asam nitrat P*, larutan menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A, B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 1,0%, lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran air-metanol *P-natrium asetat 1 M-asam asetat glasial P* (46:40:10:4), saring dan awaudarakan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Oksimetazolin Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 0,25 m x 4,6 mm berisi bahan pengisi L9. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada lima kali penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg oksimetazolin hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O.HCl, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$50C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Oksimetazolin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TETES HIDUNG OKSIMETAZOLIN HIDROKLORIDA Oxymetazoline Hydrochloride Nasal Solution

Tetes Hidung Oksimetazolin Hidroklorida adalah larutan Oksimetazolin Hidroklorida dalam air yang diatur tonisitasnya. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% Oksimetazolin Hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O.HCl dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Oksimetazolin Hidroklorida BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Pipet sejumlah volume tetes hidung setara dengan lebih kurang 2,5 mg oksimetazolin hidroklorida ke dalam corong pisah 60 ml dan tambahkan air sampai lebih kurang 10 ml. Tambahkan 2 ml larutan *natrium karbonat P* (1 dalam 10), ekstraksi dengan 10 ml *kloroform P* dan pindahkan ekstrak kloroform ke dalam corong pisah 60 ml kedua. Ekstraksi larutan kloroform dengan 10 ml *asam klorida 0,1 N*, biarkan memisah dan buang lapisan kloroform. Pindahkan 8 ml larutan asam ke dalam tabung reaksi, netralkan dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N* tetes demi tetes, tambahkan 1 tetes *natrium hidroksida 1 N* berlebihan dan campur. Tambahkan beberapa tetes larutan segar *natrium nitroprusid P 5%* dan 2 tetes larutan *natrium hidroksida P* (15 dalam 100), campur dan diamkan selama 10 menit. Tambahkan *asam klorida 0,1 N* tetes demi tetes sampai pH antara 8 dan 9, diamkan selama 10 menit: larutan menjadi ungu.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 6,5.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Oksimetazolin Hidroklorida*.

*Larutan baku* Larutkan sejumlah *Oksimetazolin Hidroklorida BPFi* dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang sesuai dengan kadar tetes hidung yang tertera pada etiket.

*Larutan uji* Gunakan *Tetes Hidung Oksimetazolin Hidroklorida*.

*Sistem kromatografi* dan *Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Oksimetazolin Hidroklorida*, kecuali dalam menghitung jumlah dalam mg oksimetazolin hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O.HCl, dalam tiap ml tetes hidung yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

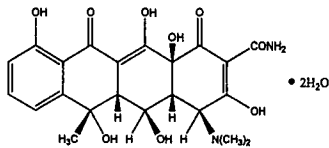


C adalah kadar *Oksimetazolin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## OKSITETRASIKLIN

### Oxytetracycline



4-(Dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidro-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi-6-metil-1,11-dikso-2-naftasena-karboksamida dihidrat [6153-64-6]

$C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot 2H_2O$  BM 496,47  
Anhidrat [79-57-2] BM 460,44

Oksitetrasiklin mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 832  $\mu\text{g}$   $C_{22}H_{24}N_2O_9$  per mg.

**Pemerian** Serbuk hablur; kuning muda sampai cokelat muda; tidak berbau; stabil di udara, oleh pengaruh cahaya matahari kuat warna berubah menjadi gelap. Dalam larutan dengan pH kurang dari 2, potensi turun; cepat rusak oleh pengaruh alkali hidroksida.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; mudah larut dalam asam klorida 3 N dan dalam larutan alkali.

**Baku pembanding** *Oksitetrasiklin BPF1*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Endotoksin BPF1*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20  $\mu\text{g}$  per ml dalam asam klorida 0,1 N menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Oksitetrasiklin BPF1*, daya serap dihitung terhadap zat anhidrat pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 353 nm adalah antara 96,0% dan 104,0% dari *Oksitetrasiklin BPF1*, potensi *Baku pembanding* diperhitungkan.

B. Campur 1 mg zat dengan 2 ml asam sulfat P; menjadi warna merah terang.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 4,5 dan 7,0; lakukan penetapan menggunakan suspensi dengan kadar 10 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Antara 6,0% dan 9,0%.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan bahwa oksitetrasiklin steril, harus memenuhi syarat uji *Sterilitas* dan *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Oksitetrasiklin untuk Injeksi*. Jika pada etiket dinyatakan bahwa oksitetrasiklin hidroklorida mengalami proses lebih lanjut selama pembuatan sediaan injeksi harus memenuhi syarat uji *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Oksitetrasiklin untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan tetrabutylamonium hidrogen sulfat* Larutkan 1 g tetrabutylamonium hidrogen sulfat P dalam 100 ml air. Atur pH hingga 7,5 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N.

*Larutan dinatrium edetat* Larutkan 40 mg dinatrium edetat P dalam 100 ml air. Atur pH hingga 7,5 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N.

*Dapar fosfat pH 7,5* Buat campuran kalium fosfat dibasa P 0,33 M dan natrium fosfat monobasa P 0,33 M (85:15). Jika perlu atur pH hingga 7,5 dengan penambahan salah satu komponen yang sesuai.

*Fase gerak* Masukkan 50 g butil alkohol tersier P ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 200 ml air. Tambahkan 60 ml *Dapar fosfat pH 7,5*, 50 ml *Larutan tetrabutyl amonium hidrogen sulfat* dan 10 ml *Larutan dinatrium edetat*, encerkan dengan air sampai tanda, awaudarakan sebelum digunakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Oksitetrasiklin BPF1*, larutkan dalam asam klorida 0,01 N hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,22 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 44 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan lebih kurang 25 ml asam klorida 0,01 N, goyang hingga larut, encerkan dengan asam klorida 0,01 N sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Buat larutan tetrasiklin hidroklorida dalam asam klorida 0,01 N dengan kadar lebih kurang 0,2 mg per ml. Campur 3 ml larutan ini dengan 1,5 ml *Larutan baku*, encerkan dengan air hingga 25 ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L21, pertahankan suhu kolom pada  $60^{\circ} \pm 2^{\circ}$ . Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif untuk oksitetrasiklin dan tetrasiklin berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak oksitetrasiklin dan puncak tetrasiklin tidak kurang dari 5.

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 1,25 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg oksitetrasiklin, C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>, per mg zat yang digunakan dengan rumus:

$$200 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Oksitetrasiklin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Oksitetrasiklin BPFi*, dalam µg per mg; *W* adalah bobot dalam mg oksitetrasiklin dalam *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak oksitetrasiklin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### OKSITETRASIKLIN HIDROKLORIDA Oxytetracycline Hydrochloride

4-(Dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidro-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi-6-metil-1,11-diokso-2-naftasenakarboxamida monohidroklorida  
[2058-46-0]  
C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>.HCl BM 496,90

Oksitetrasiklin Hidroklorida mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 835 µg C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub> per mg, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning; tidak berbau; rasa pahit; higroskopik. Oleh pengaruh cahaya matahari kuat atau suhu lebih dari 90° pada udara lembab, warna berubah menjadi gelap. Terurai pada suhu lebih dari 180°. Dalam larutan dengan pH kurang dari 2, potensi turun; cepat rusak oleh pengaruh larutan alkali hidroksida.

**Kelarutan** Tidak larut dalam kloroform dan dalam eter; sukar larut dalam etanol mutlak; agak sukar larut dalam etanol dan metanol; mudah larut dalam air, tetapi terhidrolisa menjadi hablur oksitetrasiklin dan hidroklorida.

**Baku pembanding** *Oksitetrasiklin BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu

14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20 µg per ml dalam *asam klorida 0,1 N* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Oksitetrasiklin BPFi*. Daya serap dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 353 nm adalah antara 88,2% dan 96,8% dari *Oksitetrasiklin BPFi*, potensi baku pembanding diperhitungkan.

B. Tambahkan 2 ml *asam sulfat P* pada 1 mg zat: terjadi warna merah terang.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 2,0 dan 3,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg dan suhu 60°, selama 3 jam menggunakan 100 mg zat yang ditimbang saksama.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan bahwa oksitetrasiklin hidroklorida steril, harus memenuhi syarat uji *Sterilitas* dan *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Oksitetrasiklin untuk Injeksi*. Jika pada etiket dinyatakan bahwa oksitetrasiklin hidroklorida mengalami proses lebih lanjut selama pembuatan sediaan injeksi harus memenuhi syarat uji *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Oksitetrasiklin untuk Injeksi*. Jika dimaksudkan untuk pembuatan sediaan obat mata tidak harus memenuhi uji *Endotoksin bakteri*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan tetrabutylamonium hidrogen sulfat, Larutan dinatrium edetat, Dapar fosfat pH 7,5, Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Oksitetrasiklin*.

*Larutan uji* Masukkan lebih kurang 44 mg zat ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan lebih kurang 25 ml *asam klorida 0,01 N*, goyang hingga larut, encerkan dengan *asam klorida 0,01 N* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Oksitetrasiklin*. Hitung jumlah dalam µg oksitetrasiklin, C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>, dalam tiap mg zat yang digunakan dengan rumus:

$$200 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Oksitetrasiklin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Oksitetrasiklin BPFi*, dalam µg per mg; *W* adalah bobot dalam mg,

oksitetrasiklin hidroklorida dalam *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak oksitetrasiklin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### OKSITETRASIKLIN UNTUK INJEKSI Oxytetracycline for Injections

Oksiterasiklin Untuk Injeksi mengandung Oksitetrasiklin Hidroklorida setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% Oksitetrasiklin,  $C_{22}H_{24}N_2O_9$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Oksitetrasiklin BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusikan seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*; buat pada saat akan digunakan dengan melarutkan *Oksiterasiklin untuk Injeksi*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,4 unit Endotoksin FI per mg oksitetrasiklin.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji, dengan menggunakan *Cairan D* sebagai pengganti *Cairan A*.

**pH <1071>** Antara 1,8 dan 2,8; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 25 mg per ml.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 3,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan 100 mg zat yang ditimbang saksama.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi Volume Kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi *Identifikasi B* seperti tertera pada *Oksitetrasiklin Hidroklorida*, dan memenuhi syarat *Keseragaman sediaan <911>* dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan tetrabutylamonium hidrogen sulfat, Larutan dinatrium edetat, Dapar fosfat pH 7,5, Fase gerak,*

*Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Oksitetrasiklin*.

*Larutan uji 1* (Menggunakan wadah dosis tunggal). Konstitusikan oksitetrasiklin untuk injeksi dalam air, yang diukur saksama sesuai jumlah pelarut seperti tertera pada etiket. Ke luarkan semua isi yang dapat dike luarkan menggunakan alat suntik dengan jarum hipodermik yang sesuai, encerkan secara kuantitatif dengan *asam klorida 0,01 N*, hingga kadar oksitetrasiklin lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji 2* (Pada etiket dinyatakan jumlah oksitetrasiklin dalam sejumlah volume larutan konstitusi). Konstitusikan oksitetrasiklin untuk injeksi dalam air yang diukur saksama, sesuai jumlah pelarut seperti tertera pada etiket. Encerkan sejumlah volume larutan konstitusi yang diukur saksama secara kuantitatif dengan *asam klorida 0,01 N*, hingga kadar oksitetrasiklin lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Oksitetrasiklin*. Hitung jumlah dalam mg oksitetrasiklin,  $C_{22}H_{24}N_2O_9$ , yang dike luarkan dari wadah atau dalam larutan konstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$CP \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Oksitetrasiklin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Oksitetrasiklin BPFi*, dalam  $\mu\text{g}$  per mg; *L* adalah jumlah oksitetrasiklin,  $C_{22}H_{24}N_2O_9$  dalam mg seperti tertera pada etiket, dalam wadah atau dalam larutan konstitusi yang digunakan; *D* adalah kadar oksitetrasiklin dalam mg per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket atau dalam larutan konstitusi yang digunakan dan faktor pengenceran;  $r_U$  dan  $r_S$  adalah respons puncak oksitetrasiklin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah untuk padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*, terlindung cahaya.

### OKSITOSIN Oxytocin

*Oksitosin [50-56-6]*  
 $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$

BM 1007,19

Oksitosin adalah hormon nonpeptida yang mempunyai sifat menyebabkan kontraksi otot polos uterin dan sel mioepitel kelenjar susu. Dibuat dengan cara sintesis atau diperoleh dari lobus posterior hipofisis hewan peliharaan yang biasa dimakan. Aktivitas oksitosik tidak kurang dari 400 unit Oksitosin FI per mg.

**Baku pembanding** *Oksitosin BPFi*; simpan pada suhu 0° atau di bawah 0°. Rekonstitusikan seluruh isi satu vial

dalam air, pindahkan secara kuantitatif dengan air ke dalam labu tentukur 5-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Untuk uji *Kesesuaian sistem* tambahkan *klorobutanol P* pada sebagian larutan akhir. *Vasopresin BPFi*.

**Batas mikroba** <51> Angka bakteri total tidak lebih dari 200 koloni per g. Untuk produk yang berasal dari hewan, tidak boleh mengandung *Salmonella sp* dan *Escherichia coli*.

#### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak oksitosin pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan kromatogram *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Gunakan uterus pada masa diestrus dari tikus dengan bobot tubuh 120-200 g. Gantungkan uterus dalam tangas air pada suhu 32° yang mengandung 9,0 g *natrium klorida P*, 0,42 g *kalium klorida P*, 0,16 g *kalsium klorida P*, 0,50 g *natrium bikarbonat P*, 0,25 g *dekstrosa P* dan 0,0053 g *magnesium klorida P* per liter air. Oksigenasi larutan dengan campuran 95% oksigen dan 5% karbon dioksida. Rekam kontraksi otot pada suatu alat pencatat menggunakan transduser isotonic dan linier. Tambahkan dua pengenceran *Oksitosin BPFi* yang sesuai, rekam kontraksi otot masing-masing setelah pengenceran. Pengenceran yang sesuai memberikan kontraksi submaksimal yang jelas berbeda. Ganti larutan dalam tangas dengan larutan yang baru dan tunggu hingga otot relaksasi. Larutkan atau encerkan zat uji dengan pengencer yang sesuai untuk memperoleh respons pada penambahan dua dosis seperti pada *Larutan baku*. Besarnya kontraksi yang diperoleh dari *Larutan baku* sebanding dengan kontraksi dari *Larutan uji*.

**Aktivitas vasopresor** (Untuk produk yang berasal dari hewan). Aktivitas vasopresor *Larutan uji* tidak lebih dari 0,1 unit Vasopresin FI per ml.

*Fase gerak* Larutkan 6,6 g *amonium fosfat dibasa P* dalam lebih kurang 950 ml air, atur pH hingga 3,0 dengan penambahan *asam fosfat P*. Encerkan dengan air hingga 1 L, campur. Pada 870 ml larutan ini tambahkan 130 ml *asetonitril P*, campur. Saring dalam hampa udara melalui membran nilon dengan porositas 0,45 µm. [Catatan Waktu retensi puncak vasopresin sangat peka terhadap perubahan kecil kadar *asetonitril* dalam *Fase gerak*.]

*Pengencer* Larutkan 5,0 g *klorobutanol P* dalam 5,0 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 5,0 g *etanol P*, 1,1 g *natrium asetat P* dan 1000 ml air, campur.

*Larutan baku* Larutkan isi dari 1 vial *Vasopresin BPFi* dalam sejumlah volume *Pengencer* hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 0,1 unit per ml Vasopresin FI.

*Larutan uji* Timbang saksama zat yang mengandung lebih kurang 10 mg vasopresin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam *asam asetat glasial P* 0,25%, encerkan dengan pelarut yang sama sampai tanda. Pipet 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml,

encerkan dengan *asam asetat glasial P* 0,25% sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kolom dibiarkan untuk mencapai keseimbangan selama 1 jam sebelum penyuntikan pertama. Lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931> sebagai berikut: suntikkan 20 µl *Larutan baku* ke dalam kromatograf cair yang telah disetimbangkan, biarkan selama 60 menit hingga eluasi sempurna, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi puncak vasopresin antara 6-9 menit dan terpisah dari puncak-puncak yang berdekatan. Resolusi, *R*, antara vasopresin dan puncak terdekat tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung potensi vasopresin dalam Unit Vasopresin FI per mg, dengan rumus:

$$20 C \left( \frac{V}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar dalam unit Vasopresin FI per ml *Larutan baku*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*; *V* adalah volume *Larutan uji*; *W* adalah jumlah dalam mg vasopresin yang terlarut dalam *Larutan uji*.

**Cemaran umum** Jumlah respons cemaran dalam kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh dari *Penetapan kadar* tidak lebih dari 5% luas puncak oksitosin.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak A* Buat larutan dapar dari *natrium fosfat monobasa* 0,1 M.

*Fase gerak B* Buat campuran *asetonitril P*-air (1:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer* Larutkan 5,0 g *klorobutanol P* dalam 5,0 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 5,0 ml *etanol P*, 1,1 g *natrium asetat P* dan 1000 ml air, campur.

*Larutan baku* Larutkan seluruh isi vial *Oksitosin BPFi* dengan volume tertentu *Pengencer*. [Catatan Jika perlu larutan dapat diencerkan sampai rentang kadar yang diperlukan untuk pengujian.]

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat uji, larutkan dalam *Pengencer* hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 10 unit Oksitosin FI per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi

dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 12,0 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm, atur program untuk mendapatkan variasi campuran *Fase gerak A* dan *Fase gerak B*. Pertahankan kolom pada suhu ruang, laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Sistem diseimbangkan dengan campuran 70% *Fase gerak A* dan 30% *Fase gerak B*. Setiap kali setelah penyuntikan *Larutan baku* dan *Larutan uji*, komposisi dari *Fase gerak* berubah secara linier sehingga dalam 20 menit diperoleh campuran 50% *Fase gerak A* dan 50% *Fase gerak B*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: atur laju alir atau komposisi *Fase gerak* sehingga waktu retensi oksitosin lebih kurang 10 menit dan klorobutanol antara 15 dan 17 menit, Resolusi, *R*, antara oksitosin dan puncak terdekat tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0% untuk oksitosin.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing tiga kali sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Identifikasi puncak-puncak yang ada dan tentukan respons puncak oksitosin. Hitung potensi oksitosin, C<sub>43</sub>H<sub>66</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub>, dalam unit Oksitosin FI per mg zat yang digunakan, dengan rumus:

$$C \left( \frac{V}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar dalam unit Oksitosin FI per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah nilai rata-rata dari respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*; *V* adalah volume *Larutan uji*; *W* adalah jumlah dalam mg oksitosin yang terlarut dalam *Larutan uji*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, sebaiknya dari kaca Tipe I, dalam lemari pendingin.

### INJEKSI OKSITOSIN Oxytocin Injection

Injeksi Oksitosin adalah larutan steril dalam pelarut yang sesuai. Tiap ml injeksi oksitosin mempunyai aktivitas oksitosik tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah unit Oksitosin FI yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Oksitosin BPHI*; simpan pada suhu 0° atau di bawah 0°. Rekonstitusikan seluruh isi satu vial dalam air, pindahkan secara kuantitatif dengan air ke dalam labu tentukur 5-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Untuk uji *Kesesuaian sistem* tambahkan *klorobutanol* pada sebagian larutan akhir. *Endotoksin BPHI*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.]

Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 35,7 unit Endotoksin FI per unit Oksitosin.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 5,0.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

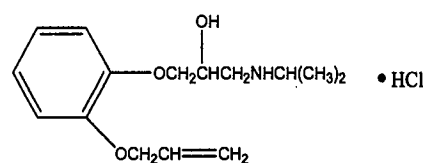
**Penetapan kadar** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Oksitosin*, kecuali pada *Larutan uji* menggunakan injeksi yang tidak diencerkan dan biarkan selama tidak kurang dari 25 menit antar penyuntikan. Hitung potensi oksitosin, C<sub>43</sub>H<sub>66</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub>, dalam unit Oksitosin FI per ml injeksi yang digunakan, dengan rumus:

$$C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar dalam unit Oksitosin FI per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah nilai rata-rata dari respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I atau dari wadah plastik yang sesuai. Jangan dibekukan.

### OKSPRENOLOL HIDROKLORIDA Oxprenolol Hydrochloride



*1-(0-Aliloksifenoksi)-3-isopropilamino-2-propanol hidroklorida* [6452-73-9]  
C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>.HCl BM 301,81

Oksprenolol Hidroksida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>.HCl, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam air; agak sukar larut dalam aseton; dan praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding Oksprenolol Hidroklorida BPFII;** lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 6 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Oksprenolol Hidroklorida BPFII.

B. Larutan menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10).

**Kejernihan larutan <881>** Larutan jernih; lakukan penetapan menggunakan larutan 1 g zat dalam 10 ml air.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 6 jam menggunakan lebih kurang 3 g zat.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Campuran etil asetat P-asam asetat glasial P-air (15:5:5).

*Pengencer* Campuran kloroform P-etanol mutlak P (1:1).

*Larutan baku A* Buat larutan Oksprenolol Hidroklorida BPFII dalam Pengencer dengan kadar 20 mg per ml.

*Larutan baku B* Encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap, sejumlah volume Larutan baku A yang diukur saksama dengan Pengencer hingga kadar 0,08 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10 ml, larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

*Larutan penampak bercak* Campuran volume sama banyak larutan kalium besi(III) sianida P (1 dalam 100) dan larutan besi(III) klorida P (1 dalam 5).

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl Larutan uji, Larutan baku A dan Larutan baku B pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm yang sebelumnya telah dicuci dengan metanol P hingga pelarut merambat sampai tepi atas lempeng. Keringkan di udara, kemudian pada suhu 100° selama 20 menit dan dinginkan dalam desikator. Biarkan bercak kering. Lapsi bejana kromatografi dengan kertas kering, jenuhkan dengan 100 ml Fase gerak dan diamkan selama lebih kurang 30 menit. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi hingga Fase gerak merambat lebih kurang

tiga per empat tinggi lempeng, angkat lempeng, keringkan pada suhu 100° selama 15 menit. Semprot lempeng dengan Larutan penampak bercak yang dibuat segar. Keringkan lempeng dengan aliran udara hangat selama lebih kurang 5 menit atau sampai bercak Larutan baku B terlihat. Amati kromatogram di bawah sinar biasa: harga R<sub>f</sub> bercak utama Larutan uji sesuai dengan harga R<sub>f</sub> Larutan baku A. Tidak ada bercak lain selain bercak utama Larutan uji yang lebih besar atau lebih intensif dari bercak utama Larutan baku B (0,4% sebanding dengan 0,2% senyawa sejenis dengan faktor respons lebih kurang dua kali lebih besar dari oksprenolol hidroklorida).

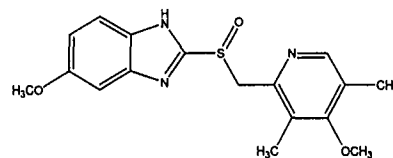
**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan Larutan uji dengan kadar 20 mg per ml dan Larutan baku dengan kadar dua kali Larutan uji.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 450 mg zat, larutkan dalam 100 ml asam asetat glasial P. Tambahkan 10 ml raksa(II) asetat LP dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV, tetapkan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan sistem elektrode kalomel-kaca dengan jembatan garam larutan jenuh litium klorida P dalam asam asetat glasial P. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 30,18 mg C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>.HCl

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**OMEPRAZOL**  
**Omeprazole**



*1H-Benzimidazol,5-metoksi-2-[[[(4-metoksi-3,5-dimetil-2 piridinil)metil]sulfinil]*  
*5-Metoksi-2-[[[(4-metoksi-3,5-dimetil-2 piridinil) metil] sulfinil]benzimidazol [73590-58-6]*  
C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S BM 345,42

Omeprazol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk putih hingga hampir putih, melebur pada suhu 150° hingga 160° disertai penguraian.

**Kelarutan** Larut dalam diklorometan, agak sukar larut dalam metanol dan dalam etanol; sangat sukar larut dalam air.

**Baku pembanding Omeprazol BPFI;** tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat di tempat dingin, terhindar dari kelembaban.

#### Identifikasi

A. Pada uji *Kemurnian kromatografi Metode I*, harga  $R_f$  bercak utama *Larutan identifikasi* sama dengan harga  $R_f$  bercak utama *Larutan baku* yang mengandung *Omeprazol BPFI* 0,15 mg per ml.

B. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Omeprazol BPFI*.

**Kesempurnaan melarut <901>** Memenuhi syarat; menggunakan larutan 20 mg per ml dalam metilen klorida P.

**Warna larutan** Serapan tidak lebih dari 0,10; ditetapkan menggunakan larutan yang dibuat untuk uji *Kesempurnaan melarut* pada panjang gelombang 440 nm dalam sel 1-cm menggunakan metilen klorida P sebagai blangko.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode IV** Memenuhi syarat.

*Pelarut* Gunakan dimetilasetamida P.

#### Kemurnian kromatografi

##### METODE I

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran diklorometan P yang dijenuhkan dengan amonia P-diklorometan P-isopropil alkohol P (2:2:1). [Catatan Buat diklorometan yang dijenuhkan dengan amonia dengan cara mencampur 30 ml ammonium hidroksida P dengan 100 ml diklorometan P dalam corong pisah. Diamkan hingga lapisan terpisah, gunakan lapisan bawah.]

*Pelarut* Campuran diklorometan P-metanol P (1:1).

*Larutan baku A* Timbang saksama sejumlah *Omeprazol BPFI*, larutkan dalam *Pelarut* dan campur hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan baku B* Encerkan *Larutan baku A* dengan *Pelarut* hingga diperoleh kadar 0,15 mg per ml.

*Larutan baku C* Encerkan *Larutan baku A* dengan *Pelarut* hingga kadar 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Buat larutan zat dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml.

*Larutan identifikasi* Encerkan secara kuantitatif sejumlah volume *Larutan uji* hingga diperoleh kadar 0,25 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l *Larutan uji*, *Larutan identifikasi*, *Larutan baku A*, *B* dan *C* pada jarak yang sama pada lempeng silika gel setebal 0,25 mm. Biarkan bercak kering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat sampai tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas *Fase gerak* dan biarkan mengering. Amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet 254 nm, kromatogram menunjukkan bercak utama pada harga  $R_f$  yang sama. Bandingkan intensitas setiap bercak lain kecuali bercak utama dalam kromatogram *Larutan uji* dengan bercak utama *Larutan baku*: tidak ada satupun bercak lain selain bercak utama memiliki intensitas lebih besar dari bercak utama *Larutan baku B* (0,3%), dan jumlah intensitas semua bercak lain selain bercak utama tidak lebih besar dari intensitas bercak utama *Larutan baku A* (1,0%).

##### METODE II

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Gunakan *Fase gerak*.

*Dapar fosfat*, *Fase gerak*, *Larutan kesesuaian sistem* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,16 mg per ml [Catatan Buat larutan segar.]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 40  $\mu$ l) *Larutan uji* dan *Pengencer* ke dalam kromatograf, dan biarkan *Larutan uji* tereluasi selama tidak kurang dari dua kali waktu retensi omeprazol. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dan  $r_s$  adalah jumlah respons semua puncak. Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,3% dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 1,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat* Larutkan 0,725 g natrium fosfat monobasa P dan 4,472 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dalam 300 ml air, encerkan dengan air hingga 1000 ml dan campur. Encerkan 250 ml larutan ini dengan air hingga 1000 ml. Jika perlu atur pH hingga 7,6 dengan asam fosfat P.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar fosfat-asetonitril P* (3:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian Sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Campuran *natrium borat 0,01 M-asetonitril P (3:1)*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Omeprazol BPFi*, larutkan dalam *Pengencer* dan jika perlu encerkan secara bertahap dan kuantitatif dengan *Pengencer* hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Encerkan sejumlah volume *Larutan baku* dengan *Pengencer* hingga diperoleh kadar *Omeprazol BPFi* 0,1 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L7* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 0,8 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas, *k'*, tidak kurang dari 6,0; efisiensi kolom tidak kurang dari 3000 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg omeprazol,  $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$500C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Omeprazol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan di tempat dingin, dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari kelembaban.

### KAPSUL LEPAS TUNDA OMEPRAZOL Omeprazole Delayed-Release Capsule

Kapsul Lepas Tunda *Omeprazol* mengandung *Omeprazol*,  $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Omeprazol BPFi*; Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, pada tempat dingin dan terlindung dari kelembaban.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Disolusi <1231>**

*UJI 1*

**Tahap Asam**

*Media disolusi*: 500 ml asam klorida 0,1 N

*Alat tipe 2*: 100 rpm

*Waktu*: 2 jam

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{17}H_{19}N_3O_3S$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat pH 7,6*; *Fase gerak* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Tahap Dapar*.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Omeprazol BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dalam 50 ml *etanol P* dan encerkan dengan *natrium borat 0,01 M* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20 ml *etanol P* dan encerkan dengan *natrium borat 0,01 M* sampai tanda.

*Larutan uji* Gunakan alikuot yang mengandung pelet yang disaring melalui ayakan dengan porositas tidak lebih dari 0,2 mm. Kumpulkan pelet pada ayakan dan bilas dengan air. Masukkan pelet secara kuantitatif dengan bantuan lebih kurang 60 ml *natrium borat 0,01 M*, ke dalam labu tentukur 100-ml. Sonikasi selama lebih kurang 20 menit sampai pelet pecah. Tambahkan 20 ml *etanol P* dan encerkan dengan *natrium borat 0,01 M* sampai tanda. Pipet sejumlah larutan ini dan encerkan dengan *natrium borat 0,01 M* hingga kadar lebih kurang 0,02 mg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg omeprazol,  $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ , yang terlarut dengan rumus:

$$T - CD \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*T* adalah jumlah dalam mg, omeprazol per kapsul seperti tertera pada etiket; *C* adalah kadar *Omeprazol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *D* adalah faktor pengenceran dalam pembuatan *Larutan uji*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Toleransi** Pada tahap *L1* tidak satu unitpun yang larut lebih dari 15%; pada tahap *L2* harga rata-rata dari 12 unit larut tidak lebih dari 20% dan tidak satu unitpun yang larut lebih dari 35%. Pada tahap *L3* harga rata-rata dari 24 unit larut tidak lebih dari 20%; tidak lebih dari 2 unit yang larut lebih dari 35% dan tidak satu unitpun yang larut lebih besar dari 45%.

**Tahap Dapar**

*Media disolusi*: 900 ml *Dapar fosfat pH 6,8*.

*Alat tipe 2*: 100 rpm



Waktu: 30 menit

Dapar fosfat pH 6,8. Tambahkan 400 ml natrium fosfat dibasa 0,235 M ke dalam Media disolusi tahap asam. Jika perlu, atur pH hingga 6,8±0,05 dengan penambahan asam klorida 2 N atau natrium hidroksida 2 N.

Prosedur Lakukan seperti tertera pada tahap asam dengan kapsul baru dari betas yang sama. Setelah 2 jam, ganti media disolusi tahap asam dengan media disolusi tahap dapar dan lanjutkan uji selama lebih dari 30 menit. Lakukan penetapan jumlah C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S yang terlarut dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Natrium fosfat dibasa 0,235 M pH 10,4 Larutkan 33,36 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dalam 1000 ml air dan atur pH hingga 10,4±0,1 dengan penambahan natrium hidroksida 2 N.

Dapar fosfat pH 6,8 Tambahkan 400 ml asam klorida 0,1 N ke dalam 320 ml natrium fosfat dibasa 0,235 M pH 10,4 dan jika perlu atur pH hingga 6,8±0,05 dengan penambahan asam klorida 2 N atau natrium hidroksida 2 N.

Dapar fosfat pH 7,6 Larutkan 0,718 g natrium fosfat monobasa P dan 4,49 g natrium fosfat dibasa P dalam 1000 ml air. Jika perlu, atur pH hingga 7,6±0,1 dengan penambahan asam klorida 2 N atau natrium hidroksida 2 N. Encerkan 250 ml larutan dengan air hingga 1000 ml.

Fase gerak Masukkan 340 ml asetonitril P ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan Dapar fosfat pH 7,6 sampai tanda, saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku 1 (untuk kapsul 10 mg) Timbang saksama sejumlah Omeprazol BPF1, larutkan dalam etanol P hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml. Encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan Dapar fosfat pH 6,8 hingga kadar lebih kurang 0,01 mg per ml. Segera tambahkan 2 ml natrium hidroksida 0,25 M ke dalam 10,0 ml larutan dan campur. [Catatan Larutan tidak boleh dibiarkan sebelum penambahan larutan natrium hidroksida.]

Larutan baku 2 (untuk kapsul 20 mg dan 40 mg) Lakukan seperti tertera pada Larutan baku 1 hingga kadar lebih kurang 0,02 mg per ml sebelum ditambah dengan 2 ml natrium hidroksida 0,25 M.

Larutan uji 1 (untuk kapsul 10 mg dan 20 mg) Masukkan segera 5,0 ml alikuot ke dalam tabung reaksi yang berisi 1,0 ml natrium hidroksida 0,25 M. Campur dan saring melalui penyaring membran dengan porositas 1,2 µm atau lebih kecil. Lindungi dari cahaya.

Larutan uji 2 (untuk kapsul 40 mg) Masukkan segera 5,0 ml alikuot ke dalam tabung reaksi yang berisi 2,0 ml natrium hidroksida 0,25 M dan 5 ml Dapar fosfat pH 6,8. Campur dan saring melalui penyaring membran dengan porositas 1,2 µm atau lebih kecil. Lindungi dari cahaya.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 12,5 cm x

4,0 mm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg omeprazol, C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, yang terlarut dengan rumus:

$$VCD \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

V adalah volume Media disolusi dalam ml; C adalah kadar Omeprazol BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; D adalah faktor pengenceran dalam pembuatan Larutan uji; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

Toleransi Gunakan kriteria seperti tertera pada Tabel penerimaan dalam Uji Disolusi <1231>. Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, untuk kapsul 10 dan 20 mg dan 70% (Q) C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, untuk kapsul 40 mg dari jumlah yang tertera pada etiket.

UJI 2 Jika sediaan memenuhi uji ini pada etiket harus dicantumkan memenuhi syarat Uji 2 Disolusi FI. Jika produk memenuhi persyaratan dengan uji ini, etiket menyatakan bahwa produk memenuhi syarat.

#### Tahap Asam

Media disolusi: 900 ml asam klorida 0,1 N

Alat tipe 1: 100 rpm

Waktu: 2 jam

Prosedur Lakukan penetapan jumlah C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S yang terlarut dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Pengencer, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan uji Gunakan alikuot yang telah diencerkan secara kuantitatif hingga kadar ±0,2 mg per ml dan lakukan seperti tertera pada Larutan uji dalam Penetapan kadar, dimulai dari "tambahkan lebih kurang 50 ml Pengencer".

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 ml) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg omeprazol, C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, yang terlarut dengan rumus:

$$T - CD \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*T* adalah jumlah dalam mg, omeprazol per kapsul seperti tertera pada etiket; *C* adalah kadar Omeprazol BPFi dalam mg per ml Larutan baku; *D* adalah faktor pengenceran dalam pembuatan Larutan uji; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Toleransi** Dalam waktu 2 jam omeprazol, C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, harus sesuai memenuhi Tabel penerimaan sebagai berikut:

Tabel Penerimaan

Tahap	Jumlah yang diuji	Kriteria Penerimaan
L <sub>1</sub>	6	Rata-rata dari 6 unit larut tidak lebih dari 10%
L <sub>2</sub>	6	Rata-rata dari 12 unit (L <sub>1</sub> +L <sub>2</sub> ) larut tidak lebih dari 10%
L <sub>3</sub>	12	Rata-rata dari 24 unit (L <sub>1</sub> +L <sub>2</sub> +L <sub>3</sub> ) larut tidak lebih dari 10%

**Tahap Dapar**

Media : 900 ml dapar fosfat 0,05 M pH 6,8

Alat tipe 1: 100 rpm

Waktu: 45 menit

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada Tahap asam dengan kapsul baru dari betas yang sama. Setelah 2 jam, ganti media asam dengan media dapar dan lanjutkan uji selama lebih dari 45 menit. Lakukan penetapan jumlah C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S yang terlarut dengan mengukur serapan sejumlah alikuot yang telah disaring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,2 µm, dan larutan baku Omeprazol BPFi dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 305 nm.

**Toleransi** Gunakan kriteria seperti tertera pada Tabel penerimaan 1 dalam Uji Disolusi <1231>. Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada Tabel berikut:

Tabel

Nama	Waktu retensi relatif	Faktor Respons Relatif (F)	Batas (%)
Produk konversi dari Tioksopirido <sup>1</sup>	0,33	1,6	0,5
5-metoksi-1-H-benzimidazol-2-tiol	0,64	3,1	0,5
Cemaran lain	-	1,0	0,5
Total cemaran	-	-	2,0

<sup>1</sup>dibentuk dalam larutan dari dua isomer: 1,3-dimetil-8-metoksi-12-tioksopirido[1',2':3,4]imidazol[1,2-a]benzimidazol-2(12H)-on dan 1,3-dimetil-9-metoksi-12-tioksopirido[1',2':3,4]imidazol[1,2-a]benzimidazol-2(12H)-on

Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan baku, Larutan uji dan Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C}{A} \right) \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar Omeprazol BPFi dalam µg per ml Larutan baku; *A* adalah jumlah dalam mg omeprazol dalam serbuk kapsul yang digunakan, seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar; *F* adalah faktor respons relatif seperti tertera pada Tabel; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak omeprazol dari Larutan baku.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer** Larutkan 7,6 g natrium borat dekahidrat P dalam lebih kurang 800 ml air. Tambahkan 1,0 g dinatrium edetat P dan atur pH hingga 11,0±0,1 dengan penambahan larutan natrium hidroksida P 50%. Masukkan larutan ke dalam labu tentukur 2000-ml, tambahkan 400 ml etanol mutlak P dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan A** Timbang 6,0 g glisin, masukkan ke dalam labu tentukur 2000-ml dan larutkan dalam 1500 ml air. Atur pH hingga 9,0 dengan penambahan larutan natrium hidroksida P 50% dan encerkan dengan air sampai tanda, saring dan awaudarakan.

**Larutan B** Buat campuran asetonitril P-metanol P (85:15), saring dan awaudarakan.

**Fase gerak** Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada Sistem kromatografi. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Omeprazol BPFi, larutkan dalam Pengencer dan sonikasi. Encerkan secara kuantitatif, dan jika perlu bertahap dengan Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luar semua isi kapsul. Bersihkan dan timbang saksama cangkang kapsul. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 20 mg omeprazol, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 50 ml Pengencer dan sonikasi selama 15 menit. Dinginkan, encerkan dengan Pengencer sampai tanda, kocok dan saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,45 µm atau lebih kecil. [Catatan Kemungkinan terbentuk gelembung pada saat pengenceran sampai tanda. Jika gelembung tetap ada lebih dari beberapa menit,

tambahkan beberapa tetes etanol mutlak P untuk menghilangkan gelembung.]

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 305 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 yang dideaktivasi basa dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,2 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0 - 20	88 → 40	12 → 60	gradien linier
20 - 21	40 → 88	60 → 12	gradien linier
21 - 25	88	12	isokratik

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 20.000 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak kurang dari 0,8 dan tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

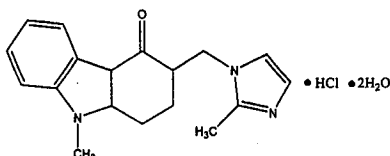
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg omeprazol, C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$CD \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Omeprazol BPF* dalam mg per ml *Larutan baku*; D adalah faktor pengenceran dalam pembuatan *Larutan uji*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan pada suhu antara 15° dan 30°. Jika tertera lebih dari satu uji *Disolusi*, cantumkan uji disolusi yang digunakan, jika tidak menggunakan *Uji 1*.

**ONDANSETRON HIDROKLORIDA**  
**Ondansetron Hydrochloride**



(±)-2,3-dihidro-9-metil-3-(2-metilimidazol-1-il)metil karbazol-4-(1H)-on monohidroklorida dihidrat [103639-04-9]  
C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O.HCl.2H<sub>2</sub>O BM 365,86

Ondansetron Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O.HCl dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian Serbuk**; putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam metanol; agak larut dalam isopropil alkohol dan dalam diklorometan; sukar larut dalam aseton, dalam kloroform, dan dalam etil asetat.

**Baku pembanding** *Ondansetron Hidroklorida BPF*; merupakan bentuk dehidrat, tidak boleh dikeringkan, untuk penggunaan kuantitatif tetapkan kadar air secara titrimetri, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa Sejenis A Ondansetron BPF*; [3[(dimetilamino)metil]-1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-4H-karbazol-4-on] tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Campuran Resolusi Ondansetron BPF*; merupakan Ondansetron Hidroklorida yang mengandung lebih kurang 0,4 % masing-masing senyawa sejenis A ondansetron dan 6,6'-metilenbis-[(1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)-metil]-4H-karbazol-4-on)] Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pendingin. *Senyawa Sejenis C Ondansetron BPF* [1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-4H-karbazol-4-on]; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat dalam lemari pendingin. *Senyawa Sejenis D Ondansetron BPF* [1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3-metilen-4H-karbazol-4-on]; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dalam lemari pendingin.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Ondansetron Hidroklorida BPF*.

B. Timbang 20 mg zat larutkan dalam 2 ml air, tambahkan 1 ml *asam nitrat 2 M* dan saring. Filtrat menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Air** <1031> *Metode Ia* Antara 9,0% dan 10,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Senyawa Sejenis D Ondansetron** Tidak lebih dari 0,10%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Kalium fosfat monobasa 0,02 M* Buat larutan *kalium fosfat monobasa 0,02 M*. Atur pH larutan hingga 5,4 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 M*.

*Fase gerak* Buat campuran *Kalium fosfat monobasa 0,02 M-asetonitril P (80:20)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis D Ondansetron BPF*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,4 µg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis D Ondansetron BPF*, dan *Senyawa*

Sejenis C Ondansetron BPFi, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan Fase gerak hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,6 µg dan 1 µg per ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 328 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L10. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif senyawa sejenis C ondansetron dan senyawa sejenis D ondansetron berturut-turut lebih kurang 0,8 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak senyawa sejenis C ondansetron dan senyawa sejenis D ondansetron tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom tidak kurang dari 400 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase senyawa sejenis D ondansetron dalam zat dengan rumus:

$$10.000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Senyawa Sejenis D Ondansetron BPFi dalam mg per ml Larutan baku; W adalah bobot dalam mg zat Larutan uji;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

#### Kemurnian kromatografi

Metode I Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Buat campuran kloroform P-etil asetat P-metanol P-amonium hidroksida P (90:50:40:1).

Larutan resolusi Timbang saksama sejumlah Campuran Resolusi Ondansetron BPFi, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan metanol P hingga kadar lebih kurang 12,5 mg per ml.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Ondansetron Hidroklorida BPFi, larutkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 0,25 mg per ml. Encerkan larutan dengan metanol P dengan komposisi berikut:

Larutan baku	Pengenceran	Kadar (µg per ml)	Persentase (%) untuk pembandingan dengan Larutan uji
A	1 dalam 5	50	0,4
B	1 dalam 10	25	0,2
C	1 dalam 20	12,5	0,1

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat larutkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 12,5 mg per ml.

Prosedur Totolkan secara terpisah masing-masing 20 µl Larutan uji, Larutan baku, dan Larutan resolusi pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan Fase gerak. Biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering. Amati bercak di bawah cahaya UV 254 nm: Ditemukan 3 bercak Larutan resolusi yang terpisah dengan sempurna. Bandingkan intensitas bercak sekunder dari kromatogram Larutan uji dengan Larutan baku: Bercak sekunder kromatogram Larutan uji dengan harga  $R_f$  yang sesuai dengan bercak sekunder paling atas dari Larutan resolusi, tidak lebih besar atau lebih intensif dari bercak utama Larutan baku A (0,4%) dan tidak satu pun bercak sekunder lain dari kromatogram Larutan uji lebih besar atau lebih intensif dari bercak utama pada kromatogram Larutan baku B (0,2%).

Metode II Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada Tabel berikut.

Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak, Larutan baku, Larutan uji, Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$50.000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Ondansetron Hidroklorida BPFi dalam mg per ml Larutan baku; W adalah bobot dalam mg zat Larutan uji; F adalah faktor respons relatif cemaran seperti yang tertera dalam Tabel;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji;  $r_s$  adalah respons puncak ondansetron dari Larutan baku.

Tabel

Nama senyawa	Waktu Retensi Relatif	Faktor Respons Relatif	Batas (%)
Senyawa sejenis C Ondansetron	± 0,32	1,2	0,2
Senyawa sejenis D Ondansetron*	± 0,34	-	0,1
Imidazol	± 0,49	0,3	0,2
2- metilimidazol	± 0,54	0,4	0,2
Ondansetron	1,0	-	-
Senyawa sejenis A Ondansetron	± 1,10	0,8	0,2
Cemaran lain	-	1,0	0,1
Total	-	-	0,5

\*dihitung dari uji batas Senyawa sejenis D Ondansetron

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Natrium fosfat monobasa 0,02 M* Buat larutan *natrium fosfat monobasa 0,02 M*. Atur pH larutan hingga 5,4 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 M*.

*Fase gerak* Buat campuran *natrium fosfat monobasa 0,02 M-asetonitril P (50:50)*, saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ondansetron Hidroklorida BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 90 µg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Ondansetron Hidroklorida BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Ondansetron BPFi*, larutkan, encerkan secara kuantitatif, dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 90 µg dan 20µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 45 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 216 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L10*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif ondansetron dan senyawa sejenis A ondansetron berturut-turut adalah lebih kurang 1,0 dan 1,1; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis A ondansetron dan ondansetron tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg ondansetron,  $C_{18}H_{19}N_3O.HCl$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$500C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Ondansetron Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan antara 15° dan 30°.

## INJEKSI ONDANSETRON Ondansetron Injection

Injeksi Ondansetron adalah larutan steril Ondansetron Hidroklorida atau Ondansetron dalam *Air untuk Injeksi* yang dibuat dengan penambahan asam klorida. Dapat mengandung dapar dan/atau zat pengatur tonisitas yang sesuai. Mengandung Ondansetron Hidroklorida setara dengan Ondansetron,  $C_{18}H_{19}N_3O$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Ondansetron Hidroklorida BPFi*; merupakan bentuk dehidrat, tidak boleh dikeringkan, untuk penggunaan kuantitatif tetapkan kadar air secara titrimetri, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa Sejenis A Ondansetron BPFi*; [3[(dimetilamino)metil]-1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-4H-karbazol-4-on] tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Campuran Resolusi Ondansetron BPFi*; Merupakan ondansetron hidroklorida yang mengandung lebih kurang 0,4 % masing-masing senyawa sejenis A Ondansetron dan 6,6'-metilenbis-[(1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)-metil]-4H-karbazol-4-on)] Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pendingin. *Senyawa Sejenis C Ondansetron BPFi* [1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-4H-karbazol-4-on]; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat dalam lemari pendingin. *Senyawa Sejenis D Ondansetron BPFi* [1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3-metilen-4H-karbazol-4-on]; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dalam lemari pendingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri** <201> tidak lebih dari 9,9 unit Endotoksin FI per mg Ondansetron hidroklorida.

pH <1071> Antara 3,3 dan 4,0.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Senyawa Sejenis D Ondansetron** Tidak lebih dari 0,12%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis D Ondansetron* dalam *Ondansetron Hidroklorida*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 10 mg ondansetron, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase senyawa sejenis D ondansetron dalam injeksi dengan rumus:

$$\left(\frac{2,5}{V}\right)\left(\frac{C_s}{C_A}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

*V* adalah volume dalam ml injeksi yang digunakan; *C<sub>S</sub>* adalah kadar senyawa sejenis D ondansetron dalam µg per ml *Larutan baku*; *C<sub>A</sub>* adalah kadar ondansetron dalam mg per ml injeksi, seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,2% dan total cemaran (termasuk senyawa sejenis D ondansetron) tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak dan Larutan uji* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan kesesuaian sistem* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis D Ondansetron* dalam *Ondansetron Hidroklorida*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak, lakukan identifikasi terhadap puncak senyawa sejenis C ondansetron dan senyawa sejenis D ondansetron berdasarkan waktu retensi relatif keduanya, berturut-turut lebih kurang 0,35 dan 0,37.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak [*Catatan Abaikan puncak senyawa sejenis D ondansetron.*] Hitung persentase masing-masing cemaran dalam injeksi dengan rumus:

$$100\left(\frac{r_i}{r_s}\right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran; *r<sub>s</sub>* adalah jumlah seluruh respons puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Kalium fosfat monobasa 0,02 M* Buat larutan kalium fosfat monobasa 0,02 M. Atur pH larutan hingga 5,4 dengan penambahan natrium hidroksida 1 M.

*Fase gerak* Buat campuran kalium fosfat monobasa 0,02 M-asetonitril P (50:50), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ondansetron Hidroklorida BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Ondansetron Hidroklorida BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Ondansetron BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif, jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,1 mg per ml dan 50 µg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 2 mg ondansetron, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 216 nm dan kolom 20 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L10*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif ondansetron dan senyawa sejenis A ondansetron berturut-turut adalah lebih kurang 1,0 dan 1,1; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis A ondansetron dan ondansetron tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg ondansetron, *C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O*, dalam tiap ml injeksi dengan rumus:

$$\left(\frac{293,36}{329,82}\right)\left(\frac{25C}{V}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

293,36 dan 329,82 berturut-turut adalah bobot molekul ondansetron dan ondansetron hidroklorida anhidrat; *C* adalah kadar *Ondansetron Hidroklorida BPFi* yang dihitung terhadap zat anhidrat dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume dalam ml injeksi yang digunakan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I, pada suhu antara 2° dan 30°, terlindung cahaya.

**TABLET ONDANSETRON**  
**Ondansetron Tablet**

Tablet Ondansetron mengandung Ondansetron Hidroklorida setara dengan Ondansetron, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Ondansetron Hidroklorida BPFi;** merupakan bentuk dehidrat, tidak boleh dikeringkan, untuk penggunaan kuantitatif tetapkan kadar air secara titrimetri, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. **Senyawa Sejenis A Ondansetron BPFi;** [3[(dimetilamino)metil]-1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-4H-karbazol-4-on] tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg ondansetron hidroklorida, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Tambahkan 50 ml etanol P dan goyang. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm dan masukkan filtrat ke dalam gelas piala 50 ml. Uapkan pelarut di atas penguap berputar. Keringkan residu dalam oven pada 105° selama 1 jam. Spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam kalium bromida P, pada bilangan gelombang 3800 hingga 650 cm<sup>-1</sup> menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang 1681, 1481, 1281 dan 758 cm<sup>-1</sup> yang sama seperti pada Ondansetron Hidroklorida BPFi. [Catatan Disarankan Ondansetron Hidroklorida BPFi dilarutkan dalam etanol P hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml, sebelum penguapan dan tahap pengeringan.]

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada Penetapan kadar.

**Disolusi <1231>**

Media disolusi : 500 ml air

Alat tipe 2 : 50 rpm

Waktu : 15 menit

Prosedur Lakukan penetapan jumlah ondansetron, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot alikuot dan serapan larutan baku ondansetron hidroklorida BPFi dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 310 nm dengan menggunakan media disolusi sebagai blangko. Hitung persentase ondansetron, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O yang terlarut dengan rumus:

$$500 \left( \frac{293,36}{365,85} \right) \left( \frac{C_s}{L} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right) 100$$

500 adalah volume dalam ml Media disolusi; 293,36 dan 365,85 berturut-turut adalah bobot molekul ondansetron dan ondansetron hidroklorida dihidrat; C<sub>s</sub> adalah kadar Ondansetron Hidroklorida BPFi dalam mg per ml Larutan baku; L adalah jumlah ondansetron dalam mg

yang tertera pada etiket; A<sub>U</sub> dan A<sub>S</sub> berturut-turut adalah serapan Larutan uji dan Larutan baku; 100 adalah faktor konversi persentase.

Toleransi Dalam waktu 15 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q), ondansetron, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O, dari jumlah yang tertera pada etiket.

Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

Senyawa sejenis Masing-masing senyawa sejenis dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada Tabel.

Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Dapar dan Fase gerak Buat seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan baku persediaan Gunakan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan baku Encerkan Larutan baku persediaan dengan Fase gerak hingga kadar ondansetron lebih kurang 1,5 µg per ml.

Larutan kesesuaian sistem Timbang saksama sejumlah Senyawa Sejenis A Ondansetron BPFi dan Ondansetron BPFi, larutkan dan encerkan dengan Fase gerak hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,05 mg per ml dan 0,1 mg per ml.

Larutan uji Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg ondansetron, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan lebih kurang 70 ml Fase gerak dan sonikasi selama lebih kurang 20 menit. Encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Sentrifus larutan dan saring melalui penyaring nilon yang sesuai dengan porositas 0,45 µm.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara puncak ondansetron dan senyawa sejenis A ondansetron tidak kurang dari 2,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf. Lakukan kromatografi terhadap Larutan uji tidak kurang dari 45 menit, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam serbuk tablet dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_v} \right) \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar ondansetron dalam mg per ml Larutan baku; C<sub>v</sub> adalah kadar ondansetron dalam mg per ml Larutan uji; F adalah faktor respons relatif masing-masing cemaran, seperti tertera pada Tabel; r<sub>i</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; r<sub>s</sub> adalah respons puncak ondansetron dari Larutan baku.

Tabel

Cemaran	Waktu retensi relatif	Faktor respons relatif	Batas (%)
2-metilimidazol <sup>a</sup>	0,22	0,53	0,2
Senyawa sejenis C Ondansetron <sup>b</sup>	0,40	1,2	0,2
Senyawa sejenis D Ondansetron <sup>c</sup>	0,47	1,3	0,1
Senyawa sejenis A Ondansetron <sup>d</sup>	0,87	0,90	0,2
Desmetil ondansetron <sup>a,e</sup>	0,90	0,91	0,2
Ondansetron	1,0	-	-
Cemaran lain	-	1,0	0,2
Total			1,0

<sup>a</sup> Tidak termasuk dalam jumlah seluruh cemaran

<sup>b</sup> 1,2,3,9-Tetrahydro-9-metil-4H-karbazol-4-on

<sup>c</sup> 1,2,3,9-Tetrahydro-9-metil-3-metilen-4H-karbazol-4-on

<sup>d</sup> 3[(Dimetilamino)metil]-1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-4H-karbazol-4-on

<sup>e</sup> 1,2,3,9-Tetrahydro-9-metil-3-[(1H-imidazol-1-il)metil]-4H-karbazol-4-on

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar* Timbang saksama lebih kurang 2,7 g kalium fosfat hidrogen monobasa P, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Atur pH hingga 5,4 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar-asetonitril P* (80:20), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Buat campuran *Dapar-asetonitril P* (50:50).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ondansetron Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam *Pengencer*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer* hingga kadar ondansetron lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg ondansetron, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 70 ml *Pengencer* dan sonikasi selama lebih kurang 20 menit. Encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Sentrifus sebagian larutan. Encerkan sejumlah volume beningan secara kuantitatif dengan *Pengencer* hingga kadar ondansetron lebih kurang 0,05 mg per ml. Saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45 µm.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 216 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L10 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada suhu ruang. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram

dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak ondansetron tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase ondansetron, C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O, dalam serbuk tablet dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{1}{L} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar ondansetron dalam mg per ml *Larutan baku*; C<sub>u</sub> adalah kadar ondansetron dalam mg per ml *Larutan uji*; L adalah jumlah ondansetron dalam mg yang tertera pada etiket; r<sub>u</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada suhu ruang terkendali.

## OPIUM MENTAH

### Opium

Opium adalah getah yang diperoleh dengan menoreh buah *Papaver somniferum* Linne atau varietas *album* De Candolle (Familia *Papaveraceae*) yang belum masak, yang dikeringkan. Mengandung tidak kurang dari 9,5% C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>, morfin anhidrat.

**Pemerian Bau** khas dan kuat; rasa sangat pahit.

**Makroskopik** Bentuk balok atau memanjang, bulat lonjong atau sedikit bulat, biasanya mempunyai diameter lebih kurang 8 cm hingga 15 cm dengan berat lebih kurang 300 g hingga 2 kg. Dari luar berwarna cokelat pudar atau abu-abu pudar dengan permukaan kasar yang dilapisi dengan lapisan tipis dari fragmen daun popi dan kadang dikemas dengan melekatkan buah dari spesies *Rumex*: saat masih segar sedikit lunak dan akan menjadi keras dan kasar pada penyimpanan. Bagian dalam berwarna cokelat kemerahan dan berupa granul kasar.

### Penetapan kadar

*Kolom kromatografi* Siapkan 3 kolom yang sama, panjang masing-masing tabung lebih kurang 260 mm terdiri dari tabung berleher sempit sepanjang 200 mm dengan diameter 25 mm dan sepanjang 60 mm diameter 6 mm. Dalam masing-masing kolom masukkan sejumlah wol kaca pada bagian tabung dengan diameter 6 mm, tekan secara perlahan sampai setinggi lebih kurang 20 mm dari lekukan.

*Dapar sitrat* Campur sejumlah volume sama *natrium sitrat 0,1 M* dan *asam sitrat 0,1 M*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Morfin Sulfat BPF1* setara dengan lebih kurang 40 mg morfin anhidrat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 0,5 ml *triethylamin P*, tambahkan *metanol P* sampai



tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan masing-masing 1 ml *trietilamin P* dan *asam klorida P*, dan tambahkan *kloroform P* jenuh air sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 2 g zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 20 ml *dimetil sulfoksida P* dan panaskan di atas tangas uap selama 20 menit, aduk sekali-sekali dengan batang pengaduk berujung pipih untuk mendispersikan zat. Biarkan selama 15 menit agar bagian yang tidak larut mengendap, tuang perlahan beningan ke dalam labu tentukur 100-ml. Pada residu tambahkan 20 ml *dimetil sulfoksida P*, bilas dinding gelas piala dengan *dimetil sulfoksida P*. Dispersikan dan panaskan zat seperti sebelumnya, kemudian biarkan mengendap, tuang beningan ke dalam labu tentukur. Ulangi proses 1 atau dua kali hingga opium melarut (selain dari fragmen-fragmen daun kecil, partikel-partikel seperti pasir, bahan gelatin, dan lain-lain). Bilas gelas piala dengan air dan masukkan residu ke dalam labu. Encerkan dengan air hingga lebih kurang 90 ml. Jika perlu tambahkan 1 tetes *etanol P* untuk menghilangkan busa. Dinginkan hingga suhu ruang, tambahkan air sampai tanda, campur. Saring larutan melalui kertas saring dengan porositas sedang, buang 20 ml filtrat pertama.

*Kolom kromatografi* Masukkan sejumlah wol kaca pada dasar setiap kolom, isi dengan penjerap yang disiapkan sebagai berikut: gunakan *tanah silika untuk kromatografi P* sebagai dasar penjerap, yang dipadatkan kuat-kuat pada kolom. Buat *Kolom 1* dalam 2 lapisan, lapisan bawah terdiri dari campuran 3 g *tanah silika untuk kromatografi P* dengan 2 ml *Dapar sitrat* dan lapisan atas terdiri dari campuran 3 g *tanah silika untuk kromatografi P*, 2,0 ml *Larutan uji* dan 0,5 ml *Dapar sitrat*. Bilas sampai kering gelas piala yang digunakan untuk mencampur komponen-komponen dari kedua lapisan dengan 1 g *tanah silika untuk kromatografi P* dan masukkan pada bagian atas *Kolom 1*. Buat *Kolom 2* dengan campuran 3 g *tanah silika untuk kromatografi P* dengan 2 ml larutan *kaliium fosfat dibasa P* (1 dalam 5,75). Buat *Kolom 3* dengan campuran 3 g *tanah silika untuk kromatografi P* dengan 2 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 50). Masukkan sejumlah kecil wol kaca di atas masing-masing isi kolom.

*Prosedur [Catatan (1) Dalam prosedur ini gunakan pelarut-pelarut jenuh air, (2) Siapkan fase gerak yang dibuat baru setiap hari dan (3) Hindari kontak larutan dengan logam.]* Cuci *Kolom 1* dengan 100 ml *eter P*, kemudian dilanjutkan dengan 100 ml *kloroform P*, bilas ujung kolom dengan *kloroform P*, buang pelarut. Untuk proses selanjutnya bilas tiap ujung kolom sebelum menyisihkan kolom atau mengganti kolom penerima. Susun ketiga kolom secara vertikal sehingga aliran dari *Kolom 1* mengalir ke *Kolom 2*, dan selanjutnya ke *Kolom 3*. Lewatkan melalui ketiga kolom 5 ml larutan *trietilamin P* dalam *kloroform P* (1 dalam 5), dilanjutkan dengan mengalirkan sebanyak empat kali, tiap kali dengan 10 ml larutan *trietilamin P* dalam *kloroform P* (1 dalam 100), biarkan masing-masing bagian mengalir sempurna

sebelum penambahan berikutnya. Sisihkan *Kolom 1*. Alirkan 5 ml larutan *trietilamin P* dalam *kloroform P* (1 dalam 100) melalui *Kolom 2* dan *3* sebanyak tiga kali. Sisihkan *Kolom 2*. Cuci *Kolom 3* berturut-turut dengan 10 ml larutan *trietilamin P* dalam *kloroform P* (1 dalam 100), 50 ml *kloroform P*, 2 ml larutan *asam asetat glasial P* dalam *kloroform P* (1 dalam 10) dan 50 ml larutan *asam asetat glasial P* dalam *kloroform P* (1 dalam 100). Buang semua cucian. Kumpulkan eluat dari *Kolom 3* dalam labu tentukur 50-ml yang berisi 10 ml *metanol P* dan 1 ml *asam klorida P*. Elusi kolom dengan 5 ml campuran *trietilamin P* dalam *kloroform P* (1 dalam 5), kemudian dengan 33 ml campuran *trietilamin P* dalam *kloroform P* (1 dalam 100). Encerkan dengan *kloroform P* sampai tanda. Rekam secara bersamaan spektrum larutan ini dan *Larutan baku* pada panjang gelombang 255 nm hingga 360 nm, dalam sel 1-cm dengan spektrofotometer yang sesuai gunakan *kloroform P* sebagai blangko, dan buat kurva antara panjang gelombang dan serapan. Koreksi serapan dari setiap larutan pada panjang gelombang serapan maksimum 285 nm, dengan menarik garis lurus antara 340 nm dan 310 nm terhadap panjang gelombang tersebut. Hitung persentase morfin anhidrat dalam zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$0,25 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

*C* adalah kadar morfin anhidrat dalam µg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot zat uji yang digunakan, dalam g; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada 285 nm.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SERBUK OPIUM Powdered Opium

Serbuk Opium adalah opium yang dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 70°, digerus hingga diperoleh serbuk sangat halus. Serbuk opium mengandung tidak kurang dari 10,0% dan tidak lebih dari 10,5% morfin anhidrat. Dapat mengandung bahan tambahan kecuali pati, seperti tertera pada *Ekstrak* dalam *Sediaan umum*.

**Pemerian Serbuk**; cokelat kekuningan sampai kuning.

**Mikroskopik** Getah terdiri dari butiran-butiran fragmen yang tidak beraturan, berwarna cokelat kekuningan sampai kuning dengan diameter 15 hingga 150 µm; sel epidermis pada kapsul popi terdiri dari beberapa fragmen dengan penebalan kuat, berinding tebal bersegi 4 hingga 5 atau sedikit memanjang, sangat sedikit fragmen jaringan daun popi, kapsul popi dan buah *Rumex*. Di samping itu terdapat karakteristik mikroskopik dari bahan pengencer jika digunakan dalam sediaan bentuk serbuk.

**Penetapan kadar** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Opium*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PANKREATIN

### Pancreatin

*Pankreatin* [8049-47-6]

Pankreatin adalah senyawa yang mengandung enzim terutama amilase, lipase dan protease, diambil dari pankreas dari sapi jantan, *Bos taurus* Linné (Familia *Bovidae*). Tiap mg pankreatin mengandung tidak kurang dari 25 unit FI aktivitas amilase, tidak kurang dari 2,0 unit FI aktivitas lipase dan tidak kurang dari 25 unit FI aktivitas protease. Pankreatin dengan daya digesti lebih tinggi dapat ditandai dengan jumlah ketiga aktivitas minimal atau dapat diencerkan dengan penambahan laktosa atau sakarosa yang mengandung tidak lebih dari 3,25%, amilum, atau dengan pankreatin kekuatan digesti lebih rendah.

[Catatan Satu unit aktivitas Amilase FI adalah aktivitas yang terdapat dalam sejumlah pankreatin yang menguraikan amilum pada kecepatan awal, dengan 0,16  $\mu$ Eq ikatan glukosida dihidrolisa per menit pada kondisi seperti tertera pada Penetapan aktivitas amilase.

Satu unit Aktivitas Lipase FI adalah aktivitas yang terdapat dalam sejumlah pankreatin yang membebaskan 1,00  $\mu$ Eq asam per menit pada pH 9,0 dan suhu 37° pada kondisi seperti tertera pada Penetapan aktivitas lipase.

Satu unit Aktivitas Protease FI adalah aktivitas yang terdapat dalam sejumlah pankreatin pada keadaan Penetapan aktifitas Protease hidrolisis kasein pada laju awal yang tiap menit membebaskan sejumlah peptida yang tidak mengendap dengan asam trikloroasetat yang memberikan absorbansi yang sama pada 280 nm sebagai tirosin pada 15 nmol.]

**Pemerian** Serbuk amorf; krim; bau khas lemah tidak menusuk. Menghidrolisa lemak menjadi gliserol dan asam-asam lemak, mengubah protein menjadi protease dan turunannya, mengubah pati menjadi dekstrin dan gula. Aktivitas terbesar pada media netral atau basa lemah; sedikit asam mineral dan alkali hidroksida dalam jumlah besar menjadikannya inert. Alkali karbonat berlebih menghambat kerjanya.

**Baku pembanding** *Garam empedu BPFi*; keringkan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat [Catatan Cegah menghirup partikel-partikel yang berterbangan.] *Pankreatin Amilase dan Protease BPFi*; simpan dalam wadah tertutup rapat, dalam lemari pendingin. Tidak boleh dibuka dalam keadaan dingin dan tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Pankreatin Lipase BPFi*; simpan dalam wadah tertutup rapat, dalam lemari pendingin. Tidak boleh

dibuka dalam keadaan dingin dan tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

**Batas mikroba** <51> Tidak boleh mengandung *Salmonella sp* dan *Escherichia coli*

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 5,0 %; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam.

**Lemak** Masukkan 2,0 gram zat dalam labu 50 ml, tambahkan 20 ml eter P, tutup labu dan diamkan selama 2 jam, campur dengan memutar pada selang waktu tertentu, tuang beningan eter melalui batang pengaduk ke dalam kertas saring dengan diameter lebih kurang 7 cm, yang sebelumnya telah dibasahi dengan eter P. Kumpulkan filtrat dalam gelas piala yang telah ditara. Ulangi ekstraksi dengan 10 ml eter P, lakukan seperti yang telah disebutkan di atas. Tambahkan lagi 10 ml eter P, kemudian pindahkan eter dan sisa ke dalam penyaring. Biarkan eter menguap, keringkan sisa pada suhu 105° selama 2 jam: bobot sisa lemak yang diperoleh dari pankreatin dengan aktivitas tiga kali atau lebih dari ketiga aktivitas minimal tidak lebih dari 120 mg (6,0%); bobot sisa lemak yang diperoleh dari pankreatin dengan aktivitas kurang dari tiga kali dari ketiga aktivitas minimal tidak lebih dari 60 mg (3,0%).

### Penetapan aktivitas amilse (Daya digesti pati)

**Dapar fosfat pH 6,8** Buat larutan segar dari 13,6 g kalium fosfat monobasa P dalam air hingga 500 ml. Larutkan 14,2 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dalam air hingga 500 ml. Campur 51 ml larutan kalium fosfat monobasa P dengan 49 ml larutan natrium fosfat dibasa P. Jika perlu atur pH dengan penambahan larutan yang sesuai tetes demi tetes hingga pH 6,8.

**Larutan substrat** Buat larutan segar. Aduk sejumlah pati terlarut yang telah dimurnikan setara dengan 2,0 g zat kering dengan 10 ml air, tambahkan ke dalam 160 ml air mendidih. Bilas gelas piala dengan 10 ml air, tambahkan ke dalam larutan panas dan panaskan hingga mendidih, sambil terus diaduk. Dinginkan hingga suhu ruang, tambahkan air hingga 200 ml.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 20 mg *Pankreatin Amilase dan Protease BPFi*, masukkan dalam mortir yang sesuai. Tambahkan lebih kurang 30 ml *Dapar fosfat pH 6,8* dan gerus selama 5 sampai 10 menit. Pindahkan campuran ke dalam labu bertekur 50-ml dengan bantuan *Dapar fosfat pH 6,8*, encerkan dengan *Dapar fosfat pH 6,8* sampai tanda. Hitung aktivitas larutan yang diperoleh dalam unit FI aktivitas amilase per ml dari potensi yang tertera pada etiket *Baku pembanding*.

**Larutan uji** Untuk pankreatin yang mempunyai aktivitas amilase lebih kurang sama seperti pada *Pankreatin BPFi*, timbang saksama lebih kurang 40 mg, masukkan ke dalam mortir yang sesuai. [Catatan Untuk pankreatin mempunyai aktivitas amilase berbeda, timbang sejumlah zat yang diperlukan untuk memperoleh

*Larutan uji dengan aktivitas amilase per ml mendekati Larutan baku.]* Tambahkan lebih kurang 3 ml *Dapar fosfat pH 6,8*, gerus selama 5 sampai 10 menit. Pindahkan campuran ke dalam labu tentukur 100-ml dengan bantuan *Dapar fosfat pH 6,8*, encerkan dengan *Dapar fosfat pH 6,8* sampai tanda.

*Prosedur* Siapkan 4 labu Erlenmeyer 250 ml bersumbat, kemudian tandai *S*, *U*, *BS*, dan *BU*. Pipet ke dalam tiap labu 25 ml *Larutan substrat*, 10 ml *Dapar fosfat pH 6,8* dan 1 ml larutan *natrium klorida P* (11,7 dalam 1000), tutup, campur. Letakkan labu dalam tangas air pada suhu  $25 \pm 0,1^\circ$ , diamkan hingga mencapai keseimbangan. Pada labu *BU* dan *BS* tambahkan 2 ml *asam klorida 1 N*, campur, masukkan kembali labu pada tangas air. Pada labu *U* dan *BU* tambahkan 1,0 ml *Larutan uji* dan pada labu *S* dan *BS* tambahkan 1,0 ml *Larutan baku*, campur masing-masing dan masukkan kembali pada tangas air. Tepat 10 menit setelah penambahan enzim, tambahkan 2 ml *asam klorida 1 N* pada labu *S* dan *U*, campur. Pada tiap labu tambahkan 10,0 ml *iodium 0,1 N LV* sambil terus diaduk dan segera tambahkan 45 ml *natrium hidroksida 0,1 N*. Tempatkan labu di tempat gelap pada suhu antara  $15^\circ$  dan  $25^\circ$  selama 15 menit. Pada tiap labu tambahkan 4 ml *asam sulfat 2 N* dan titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV* hingga warna biru hilang. Hitung aktivitas amilase dalam unit FI per mg zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_S}{W_U} \right) \left( \frac{V_{BU} - V_U}{V_{BS} - V_S} \right)$$

$C_S$  adalah aktivitas amilase dalam unit FI per ml *Larutan baku*;  $W_U$  adalah jumlah pankreatin dalam mg;  $V_U$ ,  $V_S$ ,  $V_{BU}$  dan  $V_{BS}$  berturut-turut adalah volume *natrium tiosulfat 0,1 N* dalam ml yang diperlukan pada titrasi larutan dalam labu *U*, *S*, *BU* dan *BS*.

#### Penetapan aktivitas lipase (Daya digesti lemak)

*Larutan akasia* Sentrifus larutan akasia (1 dalam 10) hingga jernih, gunakan larutan jernih.

*Substrat minyak zaitun* Campur 165 ml *Larutan akasia*, 20 ml *minyak zaitun P* dan 15 g pecahan es, masukkan dalam blender listrik. Dinginkan campuran dalam tangas es sampai suhu  $5^\circ$ ; homogenkan dengan kecepatan tinggi selama 15 menit, sesekali dinginkan dalam tangas es untuk mencegah suhu lebih dari  $30^\circ$ . Lakukan uji kesesuaian campuran sebagai berikut: Tempatkan satu tetes campuran homogen pada kaca objek, tekan hati-hati tutup kaca untuk menyebarkan cairan. Amati dengan mikroskop perbesaran tinggi (lensa objektif 43 x dan okuler 5x) yang dilengkapi mikrometer yang telah dikalibrasi. Substrat memenuhi syarat jika 90% partikel berdiameter tidak lebih dari  $2 \mu\text{m}$  dan tidak ada satupun yang lebih dari  $10 \mu\text{m}$ .

*Larutan dapar* Larutkan 60 mg *tris(hidroksimetil)aminometan P* dan 234 mg *natrium klorida P* dalam air hingga 100 ml.

*Larutan garam empedu* Larutkan sejumlah *Garam Empedu BPF1* hingga kadar 80 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 200 mg *Pankreatin Lipase BPF1*, suspensikan dengan lebih kurang 3 ml air dingin dalam mortir, gerus selama 10 menit, tambahkan air dingin dalam mortir, gerus selama 10 menit, tambahkan air dingin hingga aktivitas lipase 8-16 unit FI per ml berdasarkan potensi yang tertera pada etiket baku pembanding. Pertahankan suspensi pada suhu  $4^\circ$  dan campur sebelum digunakan. Untuk tiap penetapan ambil 5-10 ml suspensi dingin, biarkan suhu mencapai  $20^\circ$ , sebelum pemipetan volume yang tepat.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, suspensikan dalam lebih kurang 3 ml air dingin dalam mortir, gerus selama 10 menit, tambahkan air dingin hingga aktivitas lipase 8 - 16 unit FI per ml berdasarkan pada potensi zat uji yang diperkirakan. Pertahankan suspensi pada suhu  $4^\circ$ , dan campur sebelum digunakan. Untuk tiap penetapan ambil 5 ml hingga 10 ml suspensi dingin, biarkan suhu mencapai  $20^\circ$  sebelum pemipetan volume yang tepat.

*Prosedur* Campur 10,0 ml *Substrat minyak zaitun*, 8,0 ml *Larutan dapar*, 2,0 ml *Larutan garam empedu*, dan 9,0 ml air dalam bejana kaca bermantel lebih kurang 50 ml. Bagian luar bejana dihubungkan dengan tangas air yang dilengkapi dengan termostat. Tutup campuran, aduk terus menerus dengan pengaduk mekanik. Pertahankan suhu campuran pada  $37 \pm 0,1^\circ$ , tambahkan *natrium hidroksida 0,1 N LV* dari mikro buret yang dimasukkan melalui lubang pada penutup, atur pH 9,20 secara potensiometrik menggunakan elektrode kalomel dan kaca. Tambahkan 1,0 ml *Larutan uji*, tambahkan secara terus menerus *natrium hidroksida 0,1 N LV* selama 5 menit untuk mempertahankan pH pada 9,0. Hitung volume *natrium hidroksida 0,1 N LV* yang ditambahkan setiap menit. Dengan cara yang sama, titrasi 1,0 ml *Larutan baku*.

*Perhitungan potensi* Buat kurva antara volume *natrium hidroksida 0,1 N LV* terhadap waktu. Gunakan hanya titik yang membentuk garis lurus pada kurva. Hitung rata-rata asam yang dibebaskan per menit oleh zat uji dan *Larutan baku*. Dengan memperhitungkan faktor pengenceran, hitung aktivitas lipase *Larutan uji* dalam unit FI dengan membandingkan aktivitas *Larutan baku* menggunakan aktivitas *Pankreatin Lipase BPF1* yang tertera pada etiket.

#### Penetapan aktivitas protease (Daya digesti kasein)

*Substrat kasein* Buat larutan segar. Masukkan 1,25 g serbuk halus *kasein P* ke dalam labu Erlenmeyer 100 ml yang berisi 5 ml air, kocok hingga terbentuk suspensi, tambahkan 10 ml *natrium hidroksida 0,1 N*, kocok selama 1 menit, tambahkan 50 ml air, kocok lebih kurang 1 jam untuk melarutkan kasein, pH larutan harus lebih kurang 8. Jika perlu atur pH hingga lebih kurang 8, menggunakan *natrium hidroksida 1 N*, atau *asam klorida 1 N*. Pindahkan larutan pada labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Dapar* Larutkan 6,8 g *kalium fosfat monobasa P* dan 1,8 g *natrium hidroksida P* dalam 950 ml air pada labu tentukur 1000-ml, atur pH hingga  $7,5 \pm 0,2$  menggunakan

*natrium hidroksida 0,2 N*, encerkan dengan air sampai tanda. Simpan larutan dalam lemari pendingin.

*Larutan asam trikloroasetat* Larutkan 50 g asam trikloroasetat P dalam 1000 ml air, simpan larutan dalam suhu ruang.

*Kertas saring* Tetapkan kesesuaian kertas saring dengan menyaring 5 ml *Larutan asam trikloroasetat* melalui kertas dan ukur serapan filtrat pada 280 nm menggunakan sejumlah volume yang sama *Larutan asam trikloroasetat* yang tidak disaring sebagai blangko: serapan tidak lebih dari 0,04. Jika serapan lebih dari 0,04 kertas saring dicuci berulang kali dengan *Larutan asam trikloroasetat* hingga serapan filtrat yang diamati tidak lebih dari 0,04.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 100 mg *Pankreatin Amilase dan Protease BPFi*, tambahkan 100 ml *Larutan dapar*, campur sambil sekali-sekali dikocok, pada suhu ruang selama lebih kurang 25 menit. Encerkan secara kuantitatif dengan *Larutan dapar* hingga aktivitas protease lebih kurang 2,5 unit FI per ml, berdasarkan potensi yang tertera pada etiket baku pembanding

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg pankreatin, masukkan dalam mortir yang sesuai. Tambahkan lebih kurang 3 ml *Larutan dapar*, gerus selama 5 - 10 menit. Pindahkan campuran dengan bantuan *Larutan dapar* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Larutan dapar* sampai tanda. Encerkan secara kuantitatif dengan *Larutan dapar* hingga diperoleh pengenceran yang sesuai dengan aktivitas *Larutan baku*.

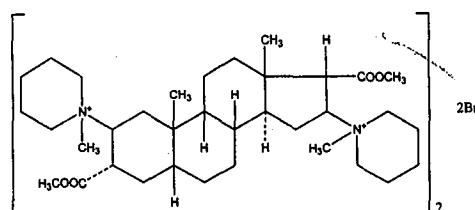
*Prosedur* Beri tanda pada masing-masing dua tabung reaksi:  $S_1$ ,  $S_2$  dan  $S_3$  untuk seri baku, dan  $U$  untuk zat uji, Pipet *Larutan dapar* ke dalam tabung  $S_1$  2,0 ml, ke dalam  $S_2$  dan  $U$  1,5 ml, dan ke dalam  $S_3$  1,0 ml. Pipet *Larutan baku* ke dalam tabung  $S_1$  1,0 ml, ke dalam  $S_2$  1,5 ml, dan ke dalam  $S_3$  2,0 ml. Pipet ke dalam tabung  $U$  1,5 ml *Larutan uji*. Pipet masing-masing 5,0 ml *Larutan asam trikloroasetat* ke dalam tiap tabung  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ , dan  $U$  campur. Tandai tabung masing-masing  $S_{1B}$ ,  $S_{2B}$ ,  $S_{3B}$ , dan  $U_B$ . Buat larutan blangko dengan mencampur 3 ml *Larutan dapar* dan 5 ml *Larutan asam trikloroasetat*, masukkan dalam tabung lain yang bertanda B. Tempatkan seluruh tabung dalam tangas air pada suhu 40°, masukkan pengaduk kaca dalam tiap tabung, biarkan hingga tercapai keseimbangan suhu. Pada waktu nol dengan mencatat interval waktu, tambahkan pada tiap tabung 2,0 ml *Substrat kasein* yang sebelumnya dipanaskan sampai suhu tangas, campur. Tepat 60 menit setelah penambahan *Substrat kasein* hentikan reaksi pada tabung  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  dan  $U$  dengan penambahan 5,0 ml *Larutan asam trikloroasetat* dengan interval waktu yang sesuai. Aduk dan angkat seluruh tabung dari tangas air. Diamkan selama 10 menit pada suhu ruang, untuk mengendapkan protein dan saring. Filtrat tidak boleh berkabut. Tetapkan serapan filtrat pada 280 nm menggunakan filtrat dari tabung B sebagai blangko.

*Perhitungan potensi* Koreksi harga serapan filtrat tabung  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  dengan mengurangi harga serapan filtrat  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  dengan serapan filtrat tabung  $S_{1B}$ ,  $S_{2B}$ , dan  $S_{3B}$ . Buat kurva harga serapan terkoreksi terhadap *Larutan*

*baku* yang digunakan. Dari kurva dengan menggunakan harga serapan terkoreksi ( $U-U_{UB}$ ) Pankreatin yang digunakan dan dengan memperhitungkan faktor pengenceran, hitung aktivitas protease dalam unit FI dari pankreatin yang digunakan dengan membandingkan terhadap baku menggunakan aktivitas protease yang tertera pada etiket *Pankreatin Amilase dan Protease BPFi*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, pada suhu tidak lebih dari 30°.

## PANKURONIUM BROMIDA Pancuronium Bromide



2β,16β-Dipiperidino-5α-androstan-3α,17β-dioldiasetat dimetobromida [15500-66-0]  
 $C_{35}H_{60}Br_2N_2O_4$  BM 732,67

Pankuronium Bromida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0 %  $C_{35}H_{60}Br_2N_2O_4$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur putih, putih kekuningan atau agak merah muda, higroskopik.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, dalam metilen klorida, dan dalam etanol.

**Baku pembanding** *Pankuronium Bromida BPFi*, *Vekuronium Bromida BPFi*, keringkan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 3 jam sebelum digunakan, sangat higroskopis. Timbang pada kondisi kelembaban kurang dari 10%. Simpan dalam wadah tertutup rapat, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Pankuronium Bromida BPFi*

B. Harga  $R_f$  bercak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku 2* pada *Senyawa sejenis*

C. Larutan (1 dalam 10) menunjukkan reaksi *Bromida* cara B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

### Kejernihan larutan

*Larutan hidrazin sulfat* Masukkan 1,0 g hidrazin sulfat P ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan

dengan air sampai tanda. Diamkan selama 4 sampai 6 jam sebelum digunakan.

*Larutan metenamin* Masukkan 2,5 g metenamin P ke dalam Erlenmeyer 100 ml bersumbat kaca, tambahkan 25 ml air, tutup dan campur hingga larut.

*Suspensi opalesen primer* [Catatan Campuran ini stabil selama 2 bulan, terutama disimpan dalam wadah kaca yang bebas dari kerusakan permukaan. Campuran ini harus tidak menempel pada gelas dan harus tercampur dengan baik sebelum digunakan.] Pipet 25 ml Larutan hidrazin sulfat ke dalam Larutan metenamin dalam Erlenmeyer 100 ml bersumbat kaca, campur dan diamkan selama 24 jam.

*Baku opalesen* [Catatan Suspensi ini sebaiknya tidak digunakan lebih dari 24 jam setelah pembuatan.] Pipet 15 ml Suspensi opalesen primer ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Suspensi pembanding* Pipet 5 ml Baku opalesen ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda (*Suspensi pembanding A*). Pipet 10 ml Baku opalesen ke dalam labu tentukur 100-ml ke dua, encerkan dengan air sampai tanda (*Suspensi pembanding B*).

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Masukkan secara terpisah sejumlah Larutan uji, Suspensi pembanding A, Suspensi pembanding B dan air ke dalam tabung reaksi tidak berwarna, transparan terbuat dari gelas netral dengan dasar datar, diameter dalam 15 - 25 mm dan tinggi 40 mm. Amati di bawah sinar matahari dari arah vertikal dengan latar belakang hitam seperti tertera pada Perbandingan visual dalam Spektrofotometri dan hamburan cahaya <1191>. [Catatan Difusi cahaya harus seperti suspensi pembanding A yang dapat dibedakan dengan air dan suspensi pembanding B dapat dibedakan dengan suspensi pembanding A.] Larutan uji sama atau lebih jernih dari Suspensi pembanding A.

#### Warna larutan

*Larutan baku persediaan* Buat campuran besi(III) klorida LK-Kobalt(II) klorida LK-tembaga(II) sulfat LK-asam klorida P (10 g per liter) (3:3:2,4:1,6).

*Larutan baku* [Catatan Siapkan larutan ini sesaat sebelum digunakan.] Pipet 1 ml Larutan baku persediaan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam klorida P (10 g per 1000 ml).

*Larutan uji* Gunakan Larutan uji seperti tertera pada Kejernihan larutan.

*Prosedur* Masukkan sejumlah Larutan uji dan Larutan baku ke dalam tabung reaksi seperti yang digunakan pada Kejernihan larutan. Amati secara Perbandingan visual seperti tertera pada Spektrofotometri dan hamburan cahaya <1191>. Warna Larutan uji tidak lebih intensif dibandingkan Larutan baku dan air.

**Rotasi jenis** <1081>Antara +39° dan +43°, lakukan penetapan menggunakan larutan 30 mg per ml.

**Air** <1031>Metode I Tidak lebih dari 8,0%.

**Sisa pemijaran** <301> Metode I Tidak lebih dari 0,1 %.

**Senyawa sejenis** Lakukan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Buat campuran isopropil alkohol P-asetonitril P-larutan natrium iodida P 40% b/v (85:10:5).

*Larutan baku 1* Buat larutan Vekuronium Bromida BPFi dan Pankuronium Bromida BPFi dalam metilen klorida P hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,1 mg per ml dan 10 mg per ml.

*Larutan baku 2* Buat larutan Pankuronium Bromida BPFi dalam metilen klorida P hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat larutkan dalam metilen klorida P hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml.

*Enceran larutan uji* Pipet 1 ml Larutan uji ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan metilen klorida P sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 20-ml dan encerkan dengan metilen klorida P sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl Larutan baku 1, Larutan baku 2, Larutan uji dan Enceran larutan uji pada lempeng kromatografi silika gel. Masukkan segera lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi Fase gerak dan tidak dijenuhkan. Biarkan merambat hingga tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan Fase gerak menguap. Semprot dengan larutan natrium nitrit P 2% b/v dan biarkan sampai kering lebih kurang 5 menit. Semprot lempeng dengan Dragendorff LP dan tutup lempeng dengan kaca transparan. Bercak yang diperoleh dari Larutan uji tidak lebih intensif dari bercak vekuronium bromida yang diperoleh dari Larutan baku 1: setara dengan 1,0% vekuronium bromida. Bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari Larutan uji, kecuali bercak utama dan bercak vekuronium bromida tidak lebih intensif dari bercak yang diperoleh dari Enceran larutan uji: setara dengan 0,1% untuk masing-masing cemar. Uji ini absah jika kromatogram Larutan baku menunjukkan dua bercak yang terpisah jelas. Harga R<sub>f</sub> pankuronium bromida dan vekuronium bromida berturut-turut lebih kurang 0,5 dan 0,64.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan secara Titrasi Bebas Air dalam Titrimetri <711>. Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala, tambahkan 50 ml asetat anhidrat P, larutkan sambil diaduk, kemudian titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 36,63 mg C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan kelembaban. Simpan pada suhu antara 15° dan 25°.

### INJEKSI PANKURONIUM BROMIDA Pancuronium Bromide Injection

Injeksi Pankuronium Bromida adalah larutan steril Pankuronium Bromida dalam infus intravena natrium klorida. Larutan disterilkan dengan cara penyaringan. Injeksi Pankuronium mengandung Pankuronium Bromida, C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Pankuronium Bromida BPF1; Dakuronium Bromida BPF1.

#### Identifikasi

A. Pada sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 5 mg pankuronium bromida, jika perlu encerkan dengan air hingga 10 ml, tambahkan 10 ml 1,2-dikloroetana P dan 1 ml jingga metil LP. Kocok, sentrifus, biarkan lapisan memisah dan asamkan lapisan organik dengan asam sulfat 1 M: terjadi warna merah.

B. Menunjukkan reaksi Bromida cara B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

pH <1071> 3,8 sampai 4,2.

**Senyawa sejenis** Lakukan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Lapisan atas campuran n-butanol P-amonium klorida P 20%-piridin P-asam asetat glasial P (60:48:40:12) yang dibuat dengan mengocok campuran.

*Pelarut* Larutan natrium klorida P 0,9%

*Larutan baku 1* Timbang sejumlah Dakuronium Bromida BPF1 larutkan dengan Pelarut hingga kadar 0,010%.

*Larutan baku 2* Timbang sejumlah Pankuronium Bromida BPF1 larutkan dengan Pelarut hingga kadar 0,0020%.

*Larutan baku 3* Timbang sejumlah Pankuronium Bromida BPF1 larutkan dengan Pelarut hingga kadar 0,20%.

*Larutan resolusi* Campuran sejumlah volume sama Larutan baku 1 dan Larutan baku 3.

*Larutan uji* Sejumlah volume injeksi, jika perlu encerkan dengan Pelarut, hingga diperoleh pankuronium bromida 0,20%.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah ke lima larutan masing-masing 5 µl pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm dengan jarak yang sama 2,5 cm. Masukkan segera lempeng ke dalam bejana kromatografi dengan tutup tidak diberi lemak, yang berisi Fase gerak. Biarkan merambat sampai 1 cm sebelum tepi atas lempeng. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan panaskan pada suhu 120° selama 1 jam. Dinginkan sampai suhu ruang, semprot lempeng dengan asam sulfat

etanol LP 10%, panaskan pada suhu 120° selama 1 jam. Bercak yang diperoleh dari Larutan uji tidak lebih intensif dari bercak dakuronium bromida yang diperoleh dari Larutan baku 1. Bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari Larutan uji tidak lebih intensif dari bercak yang diperoleh dari Larutan baku 2. Uji ini absah jika ada dua bercak utama yang berbeda nyata pada Larutan resolusi.

#### Penetapan kadar

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 4 mg pankuronium bromida, tambahkan 1 ml hidroksilamina hidroklorida P 13,9% dan 1 ml natrium hidroksida P 15%. Biarkan selama 10 menit dan tambahkan 1 ml asam klorida P 12,76%, 1 ml besi(III) klorida P 10% dalam asam klorida 0,1 N dan encerkan dengan air hingga 25 ml. Sentrifus dan gunakan beningan sebagai larutan uji.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Pankuronium Bromida BPF1 setara dengan lebih kurang 4 mg, larutkan dalam air. Ukur saksama sejumlah volume larutan yang sama dengan volume injeksi pada Larutan uji, tambahkan 1 ml hidroksilamin hidroklorida P 13,9%, dan lanjutkan menurut cara yang tertera pada Larutan uji, mulai dari "dan 1 ml natrium hidroksida P 15%".

*Larutan blangko* Sejumlah volume air yang sama dengan volume injeksi yang digunakan, tambahkan 1 ml hidroksilamin hidroklorida P 13,9% dan lanjutkan seperti tertera pada Larutan uji, mulai dari "dan 1 ml natrium hidroksida P 15%".

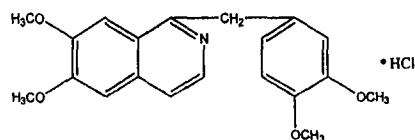
*Prosedur* Ukur serapan Larutan uji dan Larutan baku pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 510 nm menggunakan Larutan blangko. Hitung jumlah dalam mg C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> tiap ml injeksi yang digunakan dengan rumus :

$$\left(\frac{C}{V}\right)\left(\frac{A_U - A_B}{A_S - A_B}\right)$$

C adalah kadar Pankuronium BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; V adalah volume injeksi yang digunakan, dalam ml pada Larutan uji; A<sub>U</sub>, A<sub>S</sub> dan A<sub>B</sub> berturut-turut adalah serapan Larutan uji, Larutan baku dan Larutan blangko.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan pada suhu 2°-8°.

### PAPAVERIN HIDROKLORIDA Papaverine Hydrochloride



6,7-Dimetoksi-1-veratrilisokuinolina hidroklorida [61-25-6]  
C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>.HCl BM 375,85

Papaverin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur; putih atau serbuk hablur putih; tidak berbau; terasa agak pahit; tidak memutar bidang polarisasi; larutannya bereaksi asam terhadap kertas lakmus P. Melebur pada suhu lebih kurang  $220^\circ$  disertai peruraian.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam kloroform; sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Papaverin Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam sebelum digunakan.

**Kesempurnaan melarut** Larutan (1 dalam 15) dalam kloroform P; jernih dan bebas dari padatan yang tidak larut.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Papaverin Hidroklorida BPFI*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 400.000) dalam asam klorida 0,1 N menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Papaverin Hidroklorida BPFI*; serapan jenis masing-masing, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 251 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Larutan (1 dalam 50) menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 4,5 lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 50).

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Kriptopin, tebain, atau cemaran zat organik lain** Larutkan 50 mg zat dalam 2 ml asam sulfat P dalam tabung reaksi kecil; warna larutan yang terjadi tidak lebih intensif dari warna kuning cokelat Larutan padanan S seperti tertera pada Uji terhadap Zat Mudah Terarangkan <411> dan tidak lebih intensif dari merah muda volume sama larutan 3 ml kalium permanganat 0,1 N yang diencerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 700 mg zat, larutkan dalam 80 ml asam asetat glasial P, tambahkan 10 ml raksa(II) asetat LP dan 1 tetes kristal violet LP; titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LP hingga

titik akhir berwarna biru hijau. Lakukan penetapan blanko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 37,59 mg  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI PAPAVERIN HIDROKLORIDA Papaverine Hydrochloride Injection

Injeksi Papaverin Hidroklorida adalah larutan steril Papaverin Hidroklorida dalam Air untuk Injeksi, mengandung  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Papaverin Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Endotoksin BPFI; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Tambahkan 2 ml etanol P pada 1 ml injeksi, uapkan di atas tangas uap, dengan aliran nitrogen P sampai kering. Keringkan residu pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam; menunjukkan reaksi Identifikasi A seperti tertera pada *Papaverin Hidroklorida*.

B. Menunjukkan reaksi Identifikasi C seperti tertera pada *Papaverin Hidroklorida*.

**Endotoksin bakteri** <201> Mengandung tidak lebih dari 2,9 unit Endotoksin FI per mg papaverin hidroklorida.

**pH** <1071> Tidak kurang dari 3,0.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

#### Penetapan kadar

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Papaverin Hidroklorida BPFI*, larutkan dalam asam klorida 0,1 N hingga kadar lebih kurang  $4,5\mu g$  per ml.

**Larutan Uji** Pipet 1,0 ml injeksi ke dalam labu tentukur 2000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 3 ml larutan ini ke dalam corong pisah, tambahkan 10 ml air, basakan dengan amonium hidroksida 6 N. Ekstraksi beberapa kali, tiap kali dengan 5 ml kloroform P dan uapkan ekstrak hingga kering. Larutkan residu dalam asam klorida 0,1 N, encerkan dengan pelarut yang sama hingga 100,0 ml. Ukur serapan Larutan uji dan Larutan baku pada panjang gelombang serapan

maksimum lebih kurang 251 nm terhadap blangko *asam klorida 0,1 N*. Hitung jumlah dalam mg  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$ , dalam injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$6,67C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah Kadar *Papaverin Hidroklorida BPF1* dalam  $\mu g$  per ml *Larutan Baku*; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut turut adalah serapan *Larutan Uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I.

### TABLET PAPAVERIN HIDROKLORIDA Papaverine Hydrochloride Tablet

Tablet Papaverin Hidroklorida mengandung Papaverin Hidroklorida  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$ , tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Papaverin Hidroklorida BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Masukkan serbuk tablet setara dengan lebih kurang 30 mg papaverin hidroklorida ke dalam corong pisah berisi 10 ml *asam klorida 0,1 N*, ekstraksi dengan 10 ml *kloroform P*. Saring ekstrak kloroform melalui kertas saring, uapkan filtrat di atas tangas uap, keringkan residu pada suhu 105° selama 2 jam: menunjukkan *Identifikasi A* pada *Papaverin Hidroklorida*.

#### Disolusi<1231>

*Media disolusi*: 900 ml air

*Alat tipe 1*: 100 rpm

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot yang telah diencerkan dengan *asam klorida 0,1 N*, dan serapan larutan baku *Papaverin Hidroklorida BPF1* dalam media yang sama dan diencerkan dengan *asam klorida 0,1 N* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 250 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit, harus larut tidak kurang 80% (Q), papaverin hidroklorida,  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

*Prosedur keseragaman kandungan*

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Papaverin hidroklorida BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan 50 ml air dan 3 ml *asam klorida P*, campur dan biarkan selama 15 menit sambil sesekali digoyang dengan kuat. Encerkan dengan air sampai

tanda, dan saring, buang 20 ml filtrat pertama. Jika perlu encerkan filtrat secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 2,4  $\mu g$  per ml.

*Larutan uji* Masukkan 1 tablet yang telah digerus halus ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dalam 50 ml air dan 3 ml *asam klorida P*, campur dan biarkan selama 15 menit sambil sesekali digoyang dengan kuat. Encerkan dengan air sampai tanda, dan saring, buang 20 ml filtrat pertama. Jika perlu encerkan filtrat secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 2,4  $\mu g$  per ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 250 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$ , dalam tablet dengan rumus:

$$\left( \frac{TC}{D} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*T* adalah kadar papaverin hidroklorida dalam mg per tablet yang tertera pada etiket; *C* adalah kadar *Papaverin Hidroklorida BPF1* dalam  $\mu g$  per ml *Larutan baku*; *D* adalah kadar dalam  $\mu g$  per ml *Larutan uji* sesuai jumlah yang tertera pada etiket dan tingkat pengencerannya; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

#### Penetapan kadar

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet, timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 30 mg papaverin hidroklorida, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca, tambahkan lebih kurang 100 ml *asam klorida 0,1 N*, kocok secara mekanik selama 15 menit. Saring ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *asam klorida 0,1 N* sampai tanda. Lanjutkan menurut cara yang tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Injeksi Papaverin Hidroklorida*, mulai dengan "Pipet 3 ml larutan ini ke dalam corong pisah". Hitung jumlah dalam mg,  $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$  dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$6,67C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Papaverin Hidroklorida BPF1* dalam  $\mu g$  per ml *Larutan baku*; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### PARAFIN Paraffin

Parafin adalah campuran hidrokarbon padat yang dimurnikan, yang diperoleh dari minyak tanah. Dapat mengandung antioksidan yang sesuai.



**Pemerian** Hablur tembus cahaya atau agak buram; tidak berwarna atau putih; tidak berbau; tidak berasa; agak berminyak.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air dan dalam etanol; mudah larut dalam kloroform, dalam eter, dalam minyak menguap, dalam hampir semua jenis minyak lemak hangat; sukar larut dalam etanol mutlak.

**Baku pembanding** *Parafin BPF1; Naftalen BPF1.*

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah, gunakan lapis tipis parafin yang dilelehkan. [Catatan Pastikan pelelehan sempurna untuk menghindari puncak ganda pada bilangan gelombang yang diamati lebih kurang pada  $1460\text{ cm}^{-1}$  dan  $730^{-1}$ .]

B. Memenuhi syarat seperti tertera pada *Jarak Beku* <1101>.

**Jarak beku** <1101>Antara  $47^\circ$  dan  $65^\circ$ .

**Keasaman** Timbang dan masukkan 15 g zat ke dalam corong pisah, tambahkan 30 ml air mendidih, kocok kuat selama 1 menit. Dinginkan dan saring lapisan air. Pada 10 ml filtrat tambahkan 0,1 ml *fenolftalein LP*: tidak terjadi warna merah muda. Tidak lebih dari 1,0 ml *natrium hidroksida 0,01 M* diperlukan untuk merubah warna indikator menjadi merah muda.

**Kebasaan** Pada 10 ml filtrat dari uji *Keasaman* tambahkan 0,1 ml *merah metil LP*: terjadi warna kuning. Tidak lebih dari 0,5 ml *asam klorida 0,01 M* untuk mengubah warna indikator menjadi merah.

**Zat mudah terarangkan** <411> Gunakan tabung reaksi bersumbat kaca tahan panas, kering dan bersih dengan panjang  $140 \pm 2$  mm, diameter antara 14,5 mm sampai 15,0 mm dan dikalibrasi setinggi 5 ml dan 10 ml. Kapasitas tabung tertutup antara 13,6 ml dan 15,6 ml. Masukkan 5 ml parafin pada suhu sedikit di atas suhu lebur, tambahkan 5 ml *asam sulfat P 94,5%* sampai 94,9%, dan panaskan di atas tangas air pada suhu  $70^\circ$  selama 10 menit. Setelah pemanasan 5 menit, dan tiap menit berikutnya, angkat tabung, tekan sumbat dengan jari, dan kocok kuat tiga kali secara vertikal dengan amplitudo lebih kurang 12 cm, letakkan kembali ke atas tangas air dalam waktu 3 detik sejak tabung diangkat. Pada akhir 10 menit sejak awal tabung diletakkan di atas tangas air, warna lapisan asam tidak lebih gelap dari warna campuran 3 ml *besi(III) klorida LK*, 1,5 ml *kobalt(II) klorida LK* dan 0,50 ml *tembaga(II) sulfat LK*, dilapis dengan 5 ml *minyak mineral P*. Warna emulsi asam sulfat yang terdispersi dalam parafin leleh, tidak lebih gelap dari warna campuran pembanding yang dikocok kuat.

#### Hidrokarbon aromatik polisiklik

*Dimetilsulfoksida* Gunakan *dimetilsulfoksida P* kualitas spektrofotometri.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Naftalen BPF1*, larutkan dalam *Dimetil sulfoksida* hingga kadar lebih kurang  $7,0\text{ }\mu\text{g}$ . Tentukan serapan larutan dalam sel 1 cm pada panjang gelombang serapan maksimum 278 nm menggunakan *Dimetil sulfoksida* sebagai blangko.

*Prosedur* Timbang saksama 0,5 g zat, masukkan ke dalam corong pisah 125 ml tanpa pelicin pada sumbat kaca, campur dengan 25 ml *n-heptan P*. Tambahkan 5,0 ml *Dimetilsulfoksida* dan kocok kuat selama 1 menit. Biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Pindahkan lapisan bawah ke corong pisah 125 ml yang lain, tambahkan 2 ml *n-heptan P* kemudian kocok kuat. Biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Pisahkan lapisan bawah dan ukur serapan dalam sel 1-cm pada panjang gelombang 265 nm sampai 350 nm. Gunakan campuran *Dimetilsulfoksida-n-heptan P* (1:5) yang sudah dikocok kuat selama 1 menit sebagai blangko. Serapan pada setiap panjang gelombang dalam rentang yang diukur tidak lebih dari sepertiga serapan *Larutan baku* pada 278 nm.

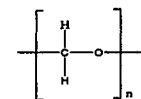
**Kandungan sulfur** Pada 4,0 g zat tambahkan 2 ml *etanol mutlak P*, kemudian tambahkan 2 tetes campuran larutan jenuh *timbal(II) oksida P* dalam *natrium hidroksida P* (1:5). Panaskan campuran pada suhu  $70^\circ$  selama 10 menit sambil sering dikocok dan dinginkan. Tidak terjadi warna cokelat gelap.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya dan cegah pemaparan terhadap panas berlebihan.

**Penandaan** Pada etiket tertera nama dan jumlah antioksidan.

#### PARAFORMALDEHIDA

##### Paraformaldehide



$(\text{CH}_2\text{O})_n$

[30525-89-4]

Paraformaldehida mengandung tidak kurang dari 95,0% HCHO.

**Pemerian** Serbuk putih dengan bau khas formaldehida.

**Kelarutan dalam amonia** Larutkan 5 g zat dalam 50 ml *amoniam LP*: terjadi larutan yang jernih dan tidak berwarna.

**Identifikasi** Kocok 1 g zat dalam 20 ml air lebih kurang 1 menit, saring; filtrat bereaksi netral terhadap *lakmus P*.

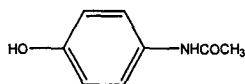
Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang berisi 50,0 ml *natrium hidroksida 1 N LV* dan kocok dengan cara diputar. Segera dan secara perlahan tambahkan 50 ml *hidrogen peroksida LP*, yang sebelumnya telah dinetralkan terhadap *biru bromotimol LP* melalui corong kecil yang diletakkan di leher labu. Setelah reaksi berlangsung, cuci corong dan dinding labu dengan air, biarkan larutan selama 30 menit, tambahkan *biru bromotimol LP* dan titrasi kelebihan alkali dengan *asam sulfat 1 N LV*.

Tiap ml *natrium hidroksida 1 N*  
setara dengan 30,03 mg *HCHO*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PARASETAMOL Acetaminophen



4'-Hidroksiasetanilida [103-90-2]

$C_8H_9NO_2$

BM 151,16

Parasetamol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_8H_9NO_2$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; tidak berbau; rasa sedikit pahit.

**Kelarutan** Larut dalam air mendidih dan dalam *natrium hidroksida 1 N*; mudah larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Parasetamol BPF1*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan di atas pengering yang cocok dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Parasetamol BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 200.000) dalam campuran *asam klorida 0,1 N* dalam *metanol P* (1 dalam 100), menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama dengan *Parasetamol BPF1*.

C. Memenuhi uji *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>, gunakan larutan 1 mg per ml dalam *metanol P* dan fase gerak *diklormetana P-metanol P* (4:1).

**Jarak lebur** <1021> Antara 168° dan 172°.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 0,014%; lakukan penetapan dengan cara sebagai berikut: Kocok 1,0 g zat dengan 25 ml air, saring, tambahkan 1 ml *asam nitrat 2 N* dan 1 ml *perak nitrat LP*: larutan menunjukkan kandungan klorida tidak lebih dari larutan 0,20 ml *asam klorida 0,020 N*.

**Sulfat** <361> Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan sebagai berikut: Kocok 1,0 g zat dengan 25 ml air, saring, tambahkan 2 ml *asam asetat 1 N* dan 2 ml *barium klorida LP*: kekeruhan yang terjadi tidak lebih dari 0,20 ml *asam sulfat 0,020 N*.

**Sulfida** Masukkan lebih kurang 2,5 g zat ke dalam gelas piala 50 ml, tambahkan 5 ml *etanol P* dan 1 ml *asam klorida 3 N*. Basahkan sepotong *kertas timbal(II) asetat P* dengan air dan letakkan pada bagian bawah kaca arloji. Tutup gelas piala dengan kaca arloji sedemikian hingga *kertas timbal(II) asetat P* dekat dengan bagian gelas piala untuk menuang. Panaskan pada lempeng pemanas sampai hampir mendidih: tidak terjadi warna atau bercak pada kertas.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 10 bpj.

**Zat mudah terarangkan** <411> Larutkan 500 mg zat dalam 5 ml *asam sulfat LP*: warna larutan tidak lebih tua dari *Larutan padanan A* seperti tertera pada *Warna dan Akromisitas* <1291>.

**p-Aminofenol bebas** Tidak lebih dari 0,005%; lakukan penetapan sebagai berikut: Masukkan 5,0 g zat ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam lebih kurang 75 ml campuran *metanol P-air* (1:1). Tambahkan 5,0 ml larutan nitroprusida basa yang dibuat dengan melarutkan 1 g *natrium nitroprusida P* dan 1 g *natrium karbonat anhidrat P* dalam 100 ml air. Encerkan dengan campuran *metanol P-air* (1:1) sampai tanda, campur dan biarkan selama 30 menit. Ukur serapan larutan ini dan larutan segar *p-aminofenol P* 2,5 µg per ml yang dibuat dengan cara sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 710 nm, menggunakan 5,0 ml larutan nitroprusida basa yang diencerkan dengan campuran *metanol P-air* (1:1) hingga 100 ml sebagai blangko: serapan larutan uji tidak lebih besar dari serapan larutan baku.

**p-Kloroasetanilida** Tidak lebih dari 0,001%. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Fase gerak Campuran *n-heksan P-aseton P* (75:25).

*Larutan uji* Timbang saksama 1,0 g zat, masukkan ke dalam tabung sentrifuga 15 ml bersumbat kaca, tambahkan 5,0 ml *eter P*, kocok selama 30 menit dan sentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit atau sampai diperoleh pemisahan sempurna.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *p-kloroasetanilida P*, larutkan dalam *eter P* hingga kadar 10 µg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah pada lempeng silika gel 200 µl *Larutan uji* (5x40 µl) hingga diameter totolan tidak lebih dari 10 mm dan 40 µl *Larutan baku*. Masukkan lempeng dalam bejana kromatografi yang tidak dijenuhkan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng dan biarkan *Fase gerak* menguap. Amati bercak di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bercak yang diperoleh dari *Larutan uji* pada harga  $R_f$  sesuai bercak utama dari *Larutan baku*, ukuran atau intensitas bercak tidak lebih besar dari bercak utama yang diperoleh dari *Larutan baku* yang mengandung setara dengan *p-Kloroasetanilida BPF1* 0,001%.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
*Metode V* Memenuhi syarat. Pertahankan suhu injektor kromatograf gas pada 70°.

*Pelarut* Gunakan *dimetil sulfoksida P*.

#### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Parasetamol BPF1*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 12 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 120 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml, larutan dalam 10 ml *metanol P*, encerkan dengan air sampai tanda. Masukan 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda dan campur. Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 244 nm, terhadap air sebagi blangko. Hitung jumlah dalam mg asetaminofen,  $C_8H_9NO_2$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$10C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Parasetamol BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan dalam suhu ruang, hindarkan dari kelembapan dan panas.

## LARUTAN ORAL PARASETAMOL

### Acetaminophen Oral Solution

Larutan Oral Parasetamol mengandung Parasetamol,  $C_8H_9NO_2$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Parasetamol BPF1*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

B. Encerkan sejumlah zat uji dengan *metanol P* hingga diperoleh larutan yang mengandung lebih kurang 1 mg parasetamol per ml. Larutan memenuhi uji *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*, gunakan fase gerak campuran *diklorometan klorida P-metanol P* (4:1).

pH <1071> Antara 3,8 dan 6,1.

**Etanol <1041>** *Metode II* (bila ada) mengandung antara 90,0% dan 115,0%  $C_2H_5OH$ , dari jumlah yang tertera pada etiket; lakukan penetapan menggunakan *aseton P* sebagai baku internal.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat. Untuk larutan oral dalam wadah dosis tunggal.

**Volume terpindahkan <1261>** Memenuhi syarat. Untuk larutan oral dalam wadah dosis ganda.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *air-metanol P* (3:1), saring dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Parasetamol BPF1*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,01 mg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume setara dengan lebih kurang 500 mg parasetamol, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini, ke dalam labu tentukur 250-ml, kedua, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 25 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Saring larutan menggunakan penyaring dengan porositas 0,5µm atau lebih halus, buang 10 ml filtrat pertama. Gunakan larutan jernih sebagai *Larutan uji*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 243 nm dan kolom 30 cm x 3,5 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang

1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 1000 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub> dalam tiap ml larutan oral yang digunakan dengan rumus:

$$50.000 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Parasetamol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume dalam ml larutan oral yang digunakan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat pada suhu ruang terkontrol.

### SUSPENSI ORAL PARASETAMOL Acetaminophen Oral Suspension

Suspensi Oral Parasetamol adalah suspensi parasetamol dalam bahan pembawa berair yang cocok. Mengandung Parasetamol, C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Parasetamol BPFi*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *4-Aminofenol BPFi*.

**Identifikasi** Masukkan sejumlah volume suspensi setara dengan lebih kurang 240 mg parasetamol ke dalam corong pisah, tambahkan 50 ml *etil asetat P* dan kocok. Saring ekstrak etil asetat melalui corong berisi wol kaca dan lebih kurang 10 g *natrium sulfat anhidrat P*. Kumpulkan filtrat dalam gelas piala dan uapkan di atas tangas uap hingga kering. Keringkan residu dalam hampa udara di atas *silika gel P*; hablur yang diperoleh memenuhi *Identifikasi A* seperti tertera pada *Parasetamol*.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 6,9.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat. Untuk suspensi oral dalam wadah dosis tunggal

**Volume berpindah** <1261> Memenuhi syarat. Untuk suspensi oral dalam wadah dosis ganda.

**4-Aminofenol** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer* Buat campuran air-metanol *P-asam format P* (425:75:2).

*Fase gerak* Buat larutan *natrium butansulfonat 0,01 M* dalam *Pengencer*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *4-Aminofenol BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar lebih kurang 24 µg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume suspensi yang setara dengan lebih kurang 120 mg parasetamol, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 272 nm dan kolom 20 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan *Larutan uji*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Respons puncak 4-aminofenol dalam *Larutan uji* tidak lebih besar dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak*, *Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Larutan Oral Parasetamol*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume suspensi yang telah dikocok setara dengan lebih kurang 100 mg parasetamol, masukan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan lebih kurang 100 ml *Fase gerak* kocok selama 10 menit. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil, buang 10 ml filtrat pertama. Gunakan filtrat sebagai *Larutan uji*.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Larutan Oral Parasetamol*. Hitung jumlah dalam mg, C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>, dalam tiap ml suspensi yang digunakan dengan rumus:

$$10.000 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Parasetamol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume dalam ml suspensi yang digunakan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat. Simpan pada suhu ruang terkendali.

### TABLET PARASETAMOL Acetaminophen Tablet

Tablet Parasetamol mengandung Parasetamol,  $C_8H_9NO_2$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Parasetamol BPF1**; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

B. Sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg parasetamol larutkan dalam 50 ml *metanol P*, saring; filtrat memenuhi uji *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>* menggunakan *Fase gerak campuran diklorometan P-metanol P (4:1)*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml *Larutan dapar fosfat pH 5,8*.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_8H_9NO_2$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Parasetamol BPF1* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 243 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q), parasetamol,  $C_8H_9NO_2$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *air-metanol P (3:1)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Parasetamol BPF1*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,01 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg parasetamol, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan lebih kurang 100 ml *Fase gerak*, kocok selama 10 menit, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutkan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Saring larutan melalui penyaring dengan

porositas 0,5  $\mu$ m atau lebih halus, buang 10 ml filtrat pertama. Gunakan filtrat sebagai *Larutan uji*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 243 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; efisiensi kolom tidak kurang dari 1000 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

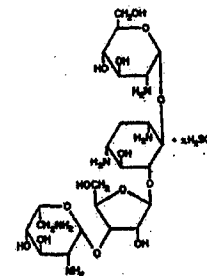
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume yang sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, parasetamol,  $C_8H_9NO_2$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$10.000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Parasetamol BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### PAROMOMISIN SULFAT Paromomycin Sulfate



Garam *O-2,6-Diamino-2,6-dideoksi- $\beta$ -L-idopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)-O- $\beta$ -D-ribofuranosil-(1 $\rightarrow$ 5)-O-[2-amino-2-deoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2-deoksistreptamin sulfat* [1263-89-4]

$C_{23}H_{45}O_{14} \cdot xH_2SO_4$

*Basa* [7542-37-2]

BM 615,64

Paromomisin Sulfat adalah garam sulfat zat antibiotika atau zat yang dihasilkan oleh *Streptomycesrimosus* var. *Paromomycinus* atau campuran dua atau lebih garam. Potensi paramomisin,  $C_{23}H_{45}N_5O_{14}$ , setara dengan tidak kurang dari 675  $\mu$ g per mg dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk putih krim sampai kuning terang; tidak berbau atau praktis tidak berbau dan sangat higroskopik.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Paromomisin Sulfat BPF1*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan dalam tempat dingin.

#### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Buat campuran larutan amonium asetat P (4 dalam 100), *n-propil alkohol* P dan amonium hidroksida P (30:10:6) yang dibuat segar.

*Penampak bercak* Buat larutan ninhidrin P dalam butanol P (1 dalam 100).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Paromomisin Sulfat BPF1*, larutkan dan encerkan dengan air hingga kadar 10 mg per ml

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan air hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 25 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*, biarkan merambat lebih kurang tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering di udara selama 10 menit. Panaskan lempeng pada suhu 105° selama 1 jam, diamkan sampai dingin dan semprot dengan *Penampak bercak*. Panaskan lempeng pada suhu 105° selama 5 menit: bercak paromomisin berwarna merah, harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

B. Menunjukkan reaksi *Sulfat* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +50° dan +55°, dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 50 mg per ml.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (3 dalam 100).

**Susut pengeringan** <1121> tidak lebih dari 5,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam menggunakan lebih kurang 100 mg zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan penetapan terhadap sisa pengeringan yang telah dibasahi dengan 2 ml *asam nitrat* P dan 5 tetes *asam sulfat* P.

**Penetapan potensi** Lakukan penetapan paromomisin sulfat seperti tertera pada *Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PATI BERAS

### Rice Starch

### Amylum Oryzae

Pati Beras adalah pati yang diperoleh dari biji *Oryza sativa* L. (Familia *Poaceae*).

**Pemerian** Serbuk sangat halus; putih.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air dingin dan dalam etanol.

**Mikroskopik** Butir bersegi banyak ukuran 2 µm sampai 5 µm, tunggal atau majemuk bentuk bulat telur ukuran 10 µm sampai 20 µm. Hilus di tengah, tidak terlihat jelas; tidak ada lamela konsentris. Amati di bawah cahaya terpolarisasi, tampak bentuk silang berwarna hitam, memotong pada hilus.

#### Identifikasi

A. Panaskan sampai mendidih selama 1 menit suspensi 1 g zat dalam 50 ml air, dinginkan: terbentuk larutan kanji yang encer.

B. Campur 1 ml larutan kanji yang diperoleh pada *Identifikasi A* dengan 0,05 ml *iodum 0,005 M*, terjadi warna biru tua yang hilang pada pemanasan dan timbul kembali pada pendinginan.

**Keasaman** Tambahkan 10 g zat pada 100 ml *etanol P* 70% yang telah dinetralkan terhadap 0,5 ml larutan *fenolfalein P* 0,1% dalam *etanol P* 80%; kocok selama 1 jam, saring dan titrasi 50 ml filtrat dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 2,0 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 15,0%; lakukan pengeringan pada suhu 100° sampai 105° menggunakan 1 g zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Bahan organik asing** Tidak lebih dari sesepora sel.

**Batas mikroba** <51> Tidak boleh mengandung *Escherichia coli*; lakukan penetapan menggunakan 1,0 g zat.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PATI GANDUM

### Wheat Starch

### Amylum Triticici

Pati Gandum adalah pati yang diperoleh dari biji *Triticum aestivum* L. (*T. vulgare* Vill.) (Familia *Poaceae*).

**Pemerian; Kelarutan; Identifikasi; Keasaman; Susut pengeringan; Sisa pemijaran; Bahan organik asing;**

**Batas mikroba; Wadah dan penyimpanan** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Pati Beras*.

**Mikroskopik** Butir, bentuk cakram besar atau seperti ginjal ukuran 10 - 45 µm; bentuk bulat telur, terbelah sepanjang poros utama; butir bersegi banyak atau bulatan kecil, ukuran 2 - 10 µm. Jarang ditemukan butiran dengan ukuran sedang. Hilus dan lamela sukar terlihat. Amati di bawah cahaya terpolarisasi, tampak bentuk silang berwarna hitam, memotong pada hilus.

### **PATI JAGUNG** **Maize Starch** **Amylum Maydis**

Pati Jagung adalah pati yang diperoleh dari biji *Zeamays* L. (familia *Poacea*).

**Pemerian; Kelarutan; Identifikasi; Keasaman; Susut pengeringan; Sisa pemijaran; Bahan organik asing; Batas mikroba; Wadah dan penyimpanan** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Pati Beras*.

**Mikroskopik** Butir bersegi banyak, bersudut, ukuran 2 - 23 µm atau butir bulat dengan diameter 25 - 32 µm. Hilus ditengah berupa rongga yang nyata atau celah berjumlah 2 - 5; tidak ada lamela. Amati di bawah cahaya terpolarisasi, tampak bentuk silang berwarna hitam, memotong pada hilus.

### **PATI KENTANG** **Potato Starch** **Amylum Solani**

Pati Kentang adalah pati yang diperoleh dari umbi *Solanum tuberosum* L (Familia *Solanaceae*).

**Pemerian; Kelarutan; Identifikasi; Keasaman; Sisa pemijaran; Bahan organik asing; Batas mikroba; Wadah dan penyimpanan** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Pati Beras*.

**Mikroskopik** Butir tunggal, tidak beraturan, atau bulat telur ukuran 30 - 100 µm; atau membulat ukuran 10 - 35 µm; butir majemuk jarang, jika ada terdiri dari majemuk 2 - 4; hilus berupa titik pada ujung yang sempit, dengan lamela konsentris jelas terlihat. Amati di bawah cahaya terpolarisasi, tampak bentuk silang berwarna hitam, memotong pada hilus.

**Besi** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut : Kocok 1,5 g zat dengan 15 ml *asam klorida 2 N*, saring; gunakan filtrat untuk penetapan selanjutnya seperti tertera pada *Uji Batas Besi* dalam *Magnesium Karbonat Berat* mulai dari "masuk ke dalam tabung Nessler".

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 20,0%; lakukan pengeringan pada suhu 100° - 105° hingga bobot tetap, menggunakan 1 g zat.

### **PATI SINGKONG** **Tapioca Starch** **Amylum Manihot**

Pati Singkong adalah pati yang diperoleh dari umbi akar *Manihot utilisima* Pohl (Familia *Euphorbiaceae*).

**Pemerian; Kelarutan; Identifikasi; Keasaman; Sisa pemijaran; Bahan organik asing; Batas mikroba; Wadah dan penyimpanan** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Pati Beras*.

**Mikroskopik** Butir tunggal, agak bulat atau bersegi banyak; butir kecil diameter 5 - 10 µm, butir besar bergaris tengah 20 - 35 µm; hilus di tengah berupa titik, garis lurus atau bercabang tiga; lamela tidak jelas, konsentris; butir majemuk sedikit, terdiri dari 2 atau 3 butir tunggal yang tidak sama bentuknya.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### **PEKTIN** **Pectine**

*Pektin* [9000-69-5]

Pektin adalah produk karbohidrat yang dimurnikan, diperoleh dari ekstrak asam encer dari bagian dalam kulit buah jeruk sitrus atau apel; terutama terdiri dari asam poligalakturonat termetoksilasi sebagian. Pektin mengandung tidak kurang dari 6,7% gugus metoksi (-OCH<sub>3</sub>) dan tidak kurang dari 74,0% asam galakturonat (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>), dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. [Catatan Pektin yang ada di perdagangan untuk pembuatan produk makanan bersifat jeli dibakukan menjadi "derajat jeli 150", dengan penambahan dekstroza atau gula lain dan kadang-kadang mengandung natrium sitrat atau garam dapar lain. Monografi pektin ini merujuk ke pektin murni tanpa penambahan zat tersebut.]

**Pemerian** Serbuk kasar atau halus; putih kekuningan; hampir tidak berbau; mempunyai rasa musilago.

**Kelarutan** Hampir larut sempurna dalam 20 bagian air, membentuk cairan kental, opalesen, larutan koloidal mudah dituang dan bersifat asam terhadap lakmus; praktis tidak larut dalam etanol atau pelarut organik lain. Pektin larut dalam air lebih cepat jika permukaan dibasahi dengan etanol, dengan gliserin, atau dengan sirup simpleks, atau jika permukaan dicampur dengan 3 bagian atau lebih sukrosa.

### Identifikasi

A. Panaskan 1 g zat dengan 9 ml air di atas tangas uap hingga terbentuk larutan, ganti air yang hilang karena penguapan: terbentuk gel yang kaku pada pendinginan.

B. Pada larutan (1 dalam 100) tambahkan *etanol P* volume sama: terbentuk endapan bening, seperti gelatin (perbedaan dari kebanyakan gom).

C. Pada 5 ml larutan (1 dalam 100) tambahkan 1 ml *natrium hidroksida 2 N*, biarkan pada suhu ruang selama 15 menit: terbentuk gel atau semigel (perbedaan dari tragakan).

D. Asamkan gel yang diperoleh dari pengujian terdahulu dengan *asam klorida 3 N*, kocok: terbentuk endapan seperti gelatin, tidak berwarna dan ruah, yang menjadi putih dan bergumpal bila dididihkan (asam pektat).

**Batas mikroba** <51> Tidak boleh mengandung *Salmonella sp.*

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 10,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Arsen** <321> *Metode II* Tidak lebih dari 3 bpj.

**Timbal** <401> Tidak lebih dari 5 bpj. Masukkan 2,0 g zat ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml berisi 20 ml *asam nitrat P*, panaskan hati-hati sampai pektin larut. Lanjutkan pemanasan hingga volume berkurang menjadi lebih kurang 7 ml. Dinginkan cepat hingga suhu ruang, pindahkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda: 50,0 ml larutan ini mengandung tidak lebih dari 5 bpj timbal (jika ditetapkan secara *Uji Batas Timbal* <401>), gunakan 15 ml *Larutan amonium sitrat*, 3 ml *Larutan kalium sianida*, dan 500 µl *Larutan hidrosilamin hidroklorida*. Sesudah ekstraksi pertama dengan *Larutan ditizon pengekstraksi*, cuci campuran lapisan kloroform dengan 5 ml air, buang lapisan air, lanjutkan ekstraksi dengan 20 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 100).

**Gula dan asam organik** Masukkan 1 g zat ke dalam labu 500 ml, basahkan dengan 3 sampai 5 ml *etanol P*, tuangkan 100 ml air dengan cepat, kocok dan diamkan hingga larut sempurna. Tambahkan 100 ml *etanol P* yang mengandung 0,3 ml *asam klorida P*, saring dengan cepat. Pipet 25 ml filtrat ke dalam cawan yang telah ditara, uapkan di atas tangas uap dan keringkan residu dalam hampa udara pada suhu 50° selama 2 jam. Dinginkan dan timbang: bobot residu tidak lebih dari 20 mg.

**Penetapan kadar gugus metoksi** Masukkan 5,0 g zat ke dalam gelas piala yang sesuai, aduk selama 10 menit dengan campuran 5 ml *asam klorida P* dan 100 ml *etanol P* 60%. Pindahkan ke dalam penyaring kaca masir (krus atau penyaring tipe Büchner, kasar 30 - 60 ml), cuci enam kali, tiap kali dengan 15 ml campuran *asam klorida P* dan *etanol P* 60%, kemudian dengan *etanol P* 60% hingga filtrat bebas klorida. Terakhir cuci dengan

20 ml *etanol P*, keringkan selama 1 jam pada suhu 105°, dinginkan dan timbang. Ambil tepat sepersepuluh total bobot bersih residu (setara dengan 500 mg zat uji asli yang tidak dicuci) masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, basahkan dengan 2 ml *etanol P*. Tambahkan 100 ml *air bebas karbon dioksida P*, tutup, goyangkan sesekali hingga pektin larut sempurna. Tambahkan 5 tetes *fenoltalein LP*, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV*, catat hasil sebagai titik awal. Tambahkan 20,0 ml *natrium hidroksida 0,5 N LV*, tutup, kocok kuat, biarkan selama 15 menit. Tambahkan 20,0 ml *asam klorida 0,5 N LV*, kocok hingga warna merah muda hilang. Tambahkan *fenoltalein LP*, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV* hingga terjadi warna merah muda lemah yang tidak hilang bila dikocok kuat: catat hasil sebagai titer penyabunan.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,5 N* pada titer penyabunan setara dengan 15,52 mg  $-OCH_3$

**Penetapan kadar asam galakturonat** Tiap ml *natrium hidroksida 0,5 N* yang digunakan pada seluruh titrasi (titer awal dan titer penyabunan) dalam *Penetapan kadar gugus metoksi* setara dengan 97,07 mg  $C_6H_{10}O_7$ .

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**Penandaan** Pada etiket tertera berasal dari apel atau jeruk sitrun.

### PEMBALUT KREP KATUN Cotton Crepe Bandage

Pembalut Krep Katun terdiri dari kain dengan tenunan sederhana yang khas. Benang arah memanjang terbuat dari benang katun lapis dua, setelah dipilin secara krep, tidak lebih halus dari 45 tex, masing-masing terdiri dari tidak kurang dari 17 putaran per cm. Benang arah melebar terbuat dari benang katun, benang viskosa atau campuran antara benang katun dan viskosa; tidak lebih halus dari 69 tex. Benang arah memanjang tersusun dari masing-masing 2 benang, satu dipilin seperti huruf S dan yang satu lagi dipilin seperti huruf Z, secara berulang. Kain tenun bersih dan bebas dari kerusakan dan boleh mengandung sesepora residu daun, kulit biji dan cemar lain. Pembalut katun krep dapat diwarnai, tidak mempunyai sambungan dan mempunyai tepi yang kuat.

**Identifikasi serat** <841> Lakukan seperti tertera pada *uji Katun* atau *Katun dan Viskosa*.

**Elastisitas** <821> Panjang tidak lebih dari 80% dari panjang setelah pembalut krep katun diregang sampai batas maksimum.

**Jumlah benang per 10 cm** Untuk benang arah memanjang tidak kurang dari 170; lakukan penetapan seperti tertera pada *Pembalut tidak meregang Metode III* dalam *Jumlah benang per satuan panjang* <871>. Untuk



benang arah melebar tidak kurang dari 78; lakukan penetapan seperti tertera pada *Pembalut meregang sempurna* dalam *Jumlah benang per satuan panjang* <871>.

**Bobot per satuan luas** <771> *Metode I* Tidak kurang dari 140 g per m<sup>2</sup>.

**Zat larut dalam air** <1301> *Metode II* dan **Zat larut dalam Eter** <1311> Jumlah keduanya tidak lebih dari 1,0%.

## **PEMBALUT PEREKAT ELASTIS** **Elastic Adhesive Dressing**

Pembalut Perekat Elastis tersedia dalam bentuk pembalut luka atau strip pembalut. Masing-masing terdiri dari bantalan penyerap yang ditempelkan pada sepotong plester berpori yang dapat meregang, sehingga terdapat kelebihan tepi perekat yang sesuai. Bantalan dan kelebihan tepi perekat ditutup dengan pelindung yang sesuai, hingga jika dilepas, perekat tidak mengelupas dan tidak membuat bantalan terlepas dari plester. Jika digunakan plester yang dapat meregang dan berpori halus, luas yang dilapisi perekat tidak kurang 50% dari luas permukaan total.

Bantalan dapat diimpregnasi dengan antiseptik yang diizinkan. Dapat diwarnai dengan warna kuning yang sesuai.

### **Pembuatan dan ukuran**

*Pembalut Luka* Bantalan mempunyai bentuk sama dengan pembalut, dilekatkan sedapat mungkin ditengah plester dengan tepi perekat tidak kurang dari 5 mm atau tidak kurang 15% dari seluruh ukuran. Lebar dari kelebihan tepi perekat pada sisi tidak kurang dari separuh lebar dari tepi di sisi yang berlawanan.

Pembalut luka berbentuk persegi panjang dengan kelebihan tepi perekat tidak kurang 1,5 mm dari tiap pasang sisi yang berlawanan dan kelebihan tepi perekat pada kedua sisi lainnya tidak kurang 25% dari seluruh ukuran pembalut arah yang sama. Sudut pembalut dapat dipotong; potongan dapat diabaikan dalam menetapkan bentuk dan ukuran pembalut.

*Strip Pembalut* Bantalan dilekatkan pada sepotong plester berbentuk bujur sangkar atau persegi panjang. Bantalan dan plester mempunyai panjang yang tidak sama, bantalan dilekatkan sedemikian hingga kelebihan tepi perekat pada kedua sisi sejajar dengan arah benang yang memanjang. Lebar dari kelebihan tepi perekat tidak kurang dari 8 mm atau tidak kurang 20% dari seluruh ukuran. Lebar kelebihan tepi perekat pada sisi tidak kurang dari separuh dari lebar kelebihan tepi perekat sisi lainnya.

## **Plester**

**Kadar zink oksida dalam massa perekat** <421> Tidak kurang dari 10,0%.

**Daya rekat** <791> Memenuhi syarat.

**Elastisitas** <821> Lebar tidak lebih 80% dari lebar setelah pembalut diregang sampai batas maksimum; lakukan pengujian pada lebar bahan, gunakan kekuatan 10 N per cm panjang (lebih kurang 1,0 kgf per cm panjang).

**Bobot massa perekat** Tidak kurang dari 220 g per m<sup>2</sup>; lakukan penetapan seperti tertera pada *Bobot massa perekat* menggunakan *Metode I* pada *Sediaan dengan perekat dalam Bobot per Satuan Luas* <771>.

**Lebar** Tidak boleh berbeda lebih dari ±1,5 mm dari yang tertera pada etiket untuk plester dengan lebar tidak lebih dari 5 cm; tidak boleh berbeda lebih dari ±2,5 mm dari yang tertera pada etiket untuk plester dengan lebar lebih dari 5 cm.

## **Kain**

**Identifikasi serat** <841> Setelah massa perekat dihilangkan; lakukan pengujian seperti tertera pada *Katun* atau *Katun dan Viskosa*.

**Beban regang minimum** <761> *Metode I* Tidak kurang dari 5 kg per cm lebar.

**Jumlah benang per 10 cm** Untuk benang arah memanjang, tidak kurang dari 105; lakukan penetapan seperti tertera pada *Pembalut meregang sempurna* dalam *Jumlah Benang per Satuan Panjang* <871>; batas maksimum untuk benang arah melebar, tidak kurang dari 145; lakukan penetapan seperti tertera pada uji *Pembalut tidak meregang, Metode II* dalam *Jumlah Benang per Satuan Panjang* <871>.

## **Bantalan**

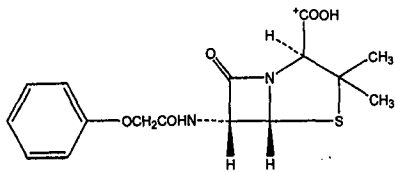
**Bobot per satuan luas** <771> Tidak kurang dari 160 g per m<sup>2</sup>, lakukan penetapan seperti tertera pada *Sediaan dengan perekat, Metode I*.

**Kandungan antiseptik** Lakukan penetapan sesuai dengan antiseptik yang digunakan seperti tertera pada *Kandungan Antiseptik dalam Pembalut* <431>.

**Ukuran bantalan** Tidak kurang dari 33% dari seluruh ukuran.

**Bobot bantalan** Tidak kurang dari 34 g per m<sup>2</sup>; lakukan penetapan seperti tertera pada *Sediaan tanpa perekat, Metode II* dalam *Bobot per Satuan Luas* <771>.

**PENISILIN V**  
**Phenoxymethyl Penicillin**  
**Penicillin V**



Asam(2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenoksi  
asetamido)-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]  
Heptan-2-karboksilat [87-08-1]  
C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S BM 350,39

Potensi Penisilin V tidak kurang dari 1525 dan tidak lebih dari 1780 unit Penisilin V FI per mg.

Pemerian Serbuk habur, putih; tidak berbau.

**Kelarutan** Tidak larut dalam minyak lemak; sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam etanol dan dalam aseton.

**Baku pembanding Kalium Penisilin V BPFI;** tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam tempat dingin. *Penisilin V BPFI;* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Kalium Penisilin G BPFI;* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam tempat dingin.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida *P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Penisilin V BPFI*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 2,5 dan 4,0; lakukan penetapan menggunakan suspensi yang mengandung 30 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril *P*-asam asetat glasial *P* (650:350:5,75), saring dan awaudarakan, jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Kalium Penisilin V BPFI, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 2,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 125 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Buat larutan dalam *Fase gerak* yang mengandung 2,5 mg kalium penisilin G dan 2,5 mg kalium penisilin V per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif penisilin G dan penisilin V masing-masing adalah lebih kurang 0,8 dan 1,0; efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak penisilin V tidak kurang dari 1800 lempeng teoritis, dan resolusi, *R*, antara puncak penisilin G dan penisilin V tidak kurang dari 3,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah unit Penisilin V FI dalam tiap mg penisilin V yang digunakan dengan rumus:

$$50 \left( \frac{CP}{W_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Kalium Penisilin V BPFI dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi Kalium Penisilin V BPFI yang dinyatakan dalam unit Penisilin V FI per mg; *W<sub>U</sub>* adalah bobot penisilin V dalam mg dalam *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**TABLET PENISILIN V**  
**Penicillin V Tablet**

Tablet Penisilin V mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% unit penisilin V FI dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Kalium Penisilin V BPFI;** tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam tempat dingin. *Penisilin V BPFI;* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Campuran kloroform *P*-asam asetat glasial *P* (90:20).

*Larutan baku* Timbang lebih kurang 10 mg Penisilin V BPFI, tambahkan 10 ml metanol *P*, campur, tambahkan 10 ml air, campur, diperoleh kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 32.000 unit Penisilin V FI (20 mg penisilin V), tambahkan 20 ml *metanol P*, campur, tambahkan 20 ml air, campur, diperoleh kadar lebih kurang 0,5 mg per ml

**Prosedur** Totolkan secara terpisah pada lempeng kromatografi *silika gel P* tebal 0,25 mm, masing-masing 1  $\mu$ l *Larutan baku* dan *Larutan uji*. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap, dan keringkan pada suhu 100° selama 3 menit. Diamkan sampai dingin, masukkan lempeng ke dalam bejana yang jenuh uap iodum, dan lakukan pengamatan setelah 10 menit: harga  $R_f$  bercak utama dari *Larutan uji* sesuai dengan harga  $R_f$  bercak utama *Larutan baku*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml air.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah  $C_{16}H_{18}N_2O_5S$  yang terlarut dengan mengukur serapan maksimum alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan maksimum *Larutan baku Kalium Penisilin V BPFi* dalam pelarut yang sama.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 3,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Penisilin V*.

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 400.000 unit Penisilin V FI, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, kocok selama lebih kurang 5 menit. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,5  $\mu$ m atau lebih halus, gunakan filtrat sebagai larutan uji.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Penisilin V*. Hitung jumlah unit Penisilin V FI dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

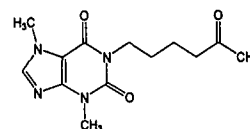
$$100 CP \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Kalium Penisilin V BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah potensi *Kalium Penisilin V BPFi* yang dinyatakan dalam unit Penisilin V FI per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PENTOKSIFILIN

### Pentoxifylline



*1H-Purin-2,6-dion, 3,7-dihidro-3,7-dimetil-1-(5-oksoheksil)-1-(5-oksoheksil)teobromin* [6493-05-6]

$C_{13}H_{18}N_4O_3$

BM 278,31

Pentoksifilin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{13}H_{18}N_4O_3$ .

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam kloroform dan dalam metanol; larut dalam air; sukar larut dalam etanol; agak sukar larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Pentoksifilin BPFi*, lakukan pengeringan dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan.

**Kesempurnaan melarut <901>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *air bebas karbondioksida P*.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Pentoksifilin BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan zat yang telah dikeringkan 0,01 mg per ml dalam air, menunjukkan serapan jenis pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 274 nm, berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Jarak lebur <1021> Metode I** Antara 104° dan 107°.

**Keasaman** Larutkan 1 g zat dalam 50 ml *air bebas karbondioksida P*, tambahkan 1 tetes *biru brom timol LP*; dibutuhkan tidak lebih dari 0,2 ml *natrium hidroksida 0,01 N* untuk menghasilkan perubahan warna.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Klorida <361>** Tidak lebih dari 0,011% atau setara dengan 0,31 ml *asam klorida 0,020 N*; lakukan penetapan menggunakan 2 g zat.

**Sulfat <361>** Tidak lebih dari 0,02% atau setara dengan 0,2 ml asam sulfat 0,020 N; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,2% dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan asam perklorat dan Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah kafein dan *Pentoksifilin BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,7 µg per ml dan 0,35 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Pentoksifilin BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,7 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,35 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara kafein dan pentoksifilin tidak kurang dari 10,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang* tidak lebih dari 5,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, lanjutkan kromatografi hingga lima kali waktu retensi pentoksifilin. Rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak, kecuali pentoksifilin. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$286 C \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Pentoksifilin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dalam *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak pentoksifilin dalam *Larutan baku*.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode V** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan asam perklorat* Buat larutan 1 g asam perklorat P dalam 1000 ml air.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan asam perklorat-asetonitril P-tetrahidrofur P-metanol P* (80:15:2,5:2),

saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah kafein dan *Pentoksifilin BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,024 mg per ml dan 0,048 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Pentoksifilin BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 273 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 0,7 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara kafein dan pentoksifilin tidak kurang dari 10,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang* tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg pentoksifilin, C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$500 C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Pentoksifilin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PERAK NITRAT Silver Nitrate

*Perak nitrat* [7761-88-8]  
AgNO<sub>3</sub>

BM 169,87

*Perak Nitrat* yang telah diserbukkan dan dikeringkan dalam gelap di atas *silika gel P* selama 4 jam, mengandung tidak kurang dari 99,8% dan tidak lebih dari 100,5% AgNO<sub>3</sub>.

**Pemerian** Hablur; tidak berwarna atau putih, bila dibiarkan terpapar cahaya dengan adanya zat organik menjadi berwarna abu-abu atau hitam keabu-abuan, pH larutan lebih kurang 5,5.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air, terlebih dalam air mendidih; agak sukar larut dalam etanol; mudah larut dalam etanol mendidih; sukar larut dalam eter.

#### Identifikasi

A. Pada larutan (1 dalam 50) menunjukkan reaksi *Perak* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

B. Campur larutan (1 dalam 10) dalam tabung reaksi dengan 1 tetes *difenilamin LP*, tambahkan hati-hati melalui dinding tabung *asam sulfat P*, terjadi warna biru tua pada bidang batas kedua cairan.

**Kejernihan dan warna larutan** Harus jernih dan tidak berwarna; lakukan penetapan menggunakan 2 g zat dalam 20 ml air.

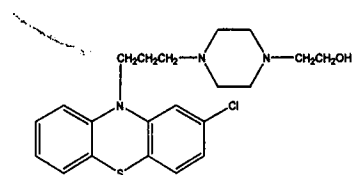
**Tembaga** Pada 5 ml larutan (1 dalam 10) tambahkan *amonium hidroksida 6 N* tetes demi tetes sampai endapan yang mula-mula terbentuk larut; tidak terjadi warna biru.

**Penetapan kadar** Serbukkan lebih kurang 1 g zat, keringkan dalam gelap di atas *silika gel P* selama 4 jam. Timbang saksama lebih kurang 700 mg zat, larutkan dalam 50 ml air, tambahkan 2 ml *asam nitrat P* dan 2 ml *besi(III) amonium sulfat LP*, titrasi dengan *amonium tiosianat 0,1 N LV*.

*Tiap ml amonium tiosianat 0,1 N setara dengan 16,99 mg AgNO<sub>3</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### PERFENAZIN Perphenazine



4-[3-(2-Klorofenotiazin-10-il)propil]-1-piperazinetanol  
[58-39-9]

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>3</sub>OS

BM 403,97

Perfenazin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102% C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>3</sub>OS, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk, putih sampai putih krim; tidak berbau.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam etanol, dan dalam kloroform; larut dalam aseton.

**Baku pembanding** *Perfenazin BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 65° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Perfenazin Sulfoksida BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Kejernihan dan warna larutan** Larutkan 500 mg zat dalam 25 ml *metanol P*; larutan jernih dan warna tidak lebih dari kuning muda. [Catatan Selama pengujian lindungi zat uji, baku pembanding dan larutan yang mengandung perfenazin dengan cara melakukan pengujian tanpa ditunda, di bawah cahaya redup atau menggunakan peralatan kaca aktinik rendah.]

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Perfenazin BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 100.000) dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Perfenazin BPFi*; serapan jenis masing-masing, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 257 nm berbeda tidak lebih dari 2,5%.

**Jarak lebur <1021>** Metode I Antara 94° dan 100°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 65° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Cemaran umum <481>

**Larutan uji** Gunakan pelarut campuran *aseton P-metanol P* (3:1).

**Larutan baku** Larutan *Perfenazin Sulfoksida BPFi* dalam pelarut campuran *aseton P-metanol P* (3:1), kecuali larutan dengan kadar 0,01 mg per ml diganti dengan larutan kadar 0,02 mg per ml.

**Fase gerak** Buat campuran *aseton P-amonium hidroksida P* (95:5).

**Penampak bercak** Gunakan teknik penampakbercak nomor 1.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat yang telah dikeringkan. Larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P*, hangatkan untuk membantu kelarutan. Dinginkan sampai suhu ruang, tambahkan 10 ml *anhidrat asetat P*, diamkan selama 5 menit. Tambahkan 1 tetes *kristal violet LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* sampai warna hijau. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 20,20 mg  $C_{21}H_{26}ClN_3OS$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET PERFENAZIN Perphenazine Tablet

Tablet Perfenazin mengandung Perfenazin,  $C_{21}H_{26}ClN_3OS$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Perfenazin BPFi; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 65° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. [Catatan Selama melakukan prosedur berikut ini, lindungi zat uji, baku pembanding dan larutan yang mengandung bahan tersebut dengan melakukan prosedur langsung tanpa penundaan, di bawah cahaya redup atau menggunakan peralatan kaca aktinik rendah.]

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>.

*Fase gerak* Campuran aseton P-amonium hidroksida P (200:1).

*Larutan baku* Timbang sejumlah Perfenazin BPFi, larutkan dalam metanol P hingga kadar 1 mg per ml.

*Larutan uji* Kocok sejumlah serbuk halus tablet setara dengan lebih kurang 5 mg perfenazin dengan lebih kurang 10 ml kloroform P, saring, uapkan filtrat di atas tangas uap hingga hampir kering dan larutkan residu dalam 5 ml metanol P.

*Larutan asam iodoplatinat* Larutkan 100 mg asam kloroplatinat P dalam 1 ml asam klorida 1 N, tambahkan 25 ml larutan kalium iodida P (4 dalam 100), encerkan dengan air hingga 100 ml, tambahkan 0,5 ml asam format P.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah pada lempeng kromatografi silika gel P tebal 0,25 mm masing-masing 5 µl Larutan baku dan Larutan uji. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga 15 cm. Angkat lempeng, keringkan di udara. Semprot dengan *Penampak bercak*: harga  $R_f$  bercak utama dari Larutan uji sesuai dengan harga  $R_f$  bercak utama Larutan baku.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi* : 900 ml asam klorida 0,1 N.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{21}H_{26}ClN_3OS$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan Larutan baku Perfenazin BPFi dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 257 nm.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{21}H_{26}ClN_3OS$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

### Penetapan kadar

*Larutan asam-etanol* Masukkan 10 ml asam klorida P ke dalam labu tentukur 1000-ml yang berisi 500 ml etanol P dan 300 ml air. Encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan paladium klorida* Masukkan 100 mg paladium klorida P dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam campuran 1 ml asam klorida P dan 50 ml air, panaskan di atas tangas uap. Dinginkan, encerkan dengan air sampai tanda. Simpan dalam botol cokelat dan gunakan dalam waktu 30 hari. Pada saat akan digunakan, masukkan 50 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 500-ml, tambahkan 4 ml asam klorida P dan 4,1 g natrium asetat anhidrat P, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Perfenazin BPFi, larutkan dalam Larutan asam-etanol hingga kadar lebih kurang 150 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbuk haluskan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 4 mg perfenazin, masukan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca, tambahkan 25 ml Larutan asam-etanol, kocok selama 30 menit menggunakan pengocok mekanik, dan sentrifus. Gunakan beningan sebagai Larutan uji.

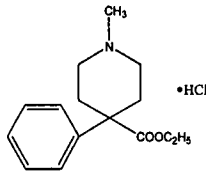
*Prosedur* Campur masing-masing 10,0 ml Larutan uji dan Larutan baku dengan 15,0 ml Larutan paladium klorida, saring jika perlu. Ukur serapan kedua larutan ini pada gelombang serapan maksimum lebih kurang 480 nm menggunakan spektrofotometer yang sesuai dengan pereaksi sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg perfenazin,  $C_{21}H_{26}ClN_3OS$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$0,025 C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar Perfenazin BPFi dalam µg per ml Larutan baku;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**PETIDIN HIDROKLORIDA**  
**Meperidine Hydrochloride**  
**Pethidine Hydrochloride**



*Etil-1-metil-4-fenilisonipekotat hidroklorida* [50-13-5]  
 $C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$  BM 283,79

Petidin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%,  $C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur halus, putih; tidak berbau; pH larutan (1 dalam 20) lebih kurang 5.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; larut dalam etanol; agak sukar larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Petidin Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan pada tekanan antara 20 - 40 mmHg pada suhu 80° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Memenuhi syarat *Identifikasi Basa Nitrogen Organik* <261>.

B. Larutan (1 dalam 100) menunjukkan reaksi *Klorida* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

C. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Jarak lebur** <1021> antara 186° dan 189°; lakukan penetapan setelah pengeringan dalam hampa udara pada suhu 80° selama 4 jam.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan antara 20 - 40 mmHg pada suhu 80° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Kandungan klorida** Tidak kurang dari 12,2% dan tidak lebih dari 12,7%. Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat yang telah dikeringkan, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml. Tambahkan 15 ml air, 5 ml *asam asetat glasial P*, 50 ml *metanol P* dan 0,2 ml *eosin Y LP*. Titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV* hingga warna merah muda

Tiap ml *perak nitrat 0,1 N*  
setara dengan 3,545 mg *Cl*

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Timbang sejumlah zat, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml. Suntikkan 2,0 µl larutan ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 2 m x 2 mm berisi bahan pengisi 10% fase diam *G3* dengan partikel penyangga *SIA*. Pertahankan suhu kolom, injektor, dan detektor masing-masing pada 190°, 255° dan 280°. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa, laju alir 28 ml per menit. Hitung persentase luas tiap puncak pada kromatogram. Tidak ada puncak lain selain puncak utama (kecuali puncak pelarut) yang luasnya lebih dari 1,0% luas total.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode I* Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan dapar* Masukkan lebih kurang 6,8 g *kalium fosfat monobasa P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Tambahkan 10 ml *trietilamin P* dan campur, atur pH hingga 7,0 dengan penambahan *asam fosfat P*, saring.

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P* dan *Larutan dapar* (55:45), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 30 mg *Petidin Hidroklorida BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 230 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak petidin tidak lebih dari 2; efisiensi kolom tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume yang sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg petidin hidroklorida,  $C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$250 C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar *Petidin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

$$2500 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

C adalah kadar *Petidin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak petidin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

## INJEKSI PETIDIN HIDROKLORIDA Pethidine Hydrochloride Injection

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I.

Injeksi Petidin Hidroklorida adalah larutan steril Petidin Hidroklorida dalam *Air Untuk Injeksi*. Mengandung Petidin Hidroklorida,  $C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

## PILOKARPIN HIDROKLORIDA Pilocarpine Hydrochloride

**Baku pembanding** *Petidin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan pada tekanan antara 20 sampai 40 mmHg pada suhu 80° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

*Pilokarpin monohidroklorida* [54-71-7]  
 $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$  BM 244,72

Pilokarpin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

### Identifikasi

A. Memenuhi syarat *Identifikasi Basa Nitrogen Organik* <261>.

B. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan Kadar*.

**Pemerian** Hablur; tidak berwarna, agak transparan, tidak berbau; rasa agak pahit; higroskopis dan dipengaruhi oleh cahaya, bereaksi asam terhadap kertas lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam etanol; sukar larut dalam kloroform; tidak larut dalam eter.

pH <1071> Antara 3,5 dan 6,0.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 2,4 unit Endotoksin FI per mg petidin hidroklorida.

**Baku pembanding** *Pilokarpin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Pilokarpin Hidroklorida BPFi*.

B. Larutan (1 dalam 20) menunjukkan reaksi *Klorida* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *kromatografi* <931>.

*Larutan dapar, Fase gerak, Sistem kromatografi dan Larutan baku* Lakukan seperti pada *Penetapan kadar dalam Petidin Hidroklorida*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi, yang setara dengan lebih kurang 300 mg petidin hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Jarak lebur** <1021> Antara 199° dan 205°, rentang antara awal yang setara dan akhir peleburan tidak lebih dari 3°.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +88,5° dan +91,5°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 200 mg per 10 ml.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg petidin hidroklorida,  $C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ , dalam injeksi yang digunakan dengan rumus:

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 3,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Zat mudah terarangkan** <411> Larutkan 250 mg zat dalam 5 ml *asam sulfat LP*; warna larutan tidak lebih gelap dari *Larutan padanan B*.



**Alkaloid lain** Larutkan 200 mg zat dalam 20 ml air dan larutan dibagi dua. Tambahkan beberapa tetes *amonium hidroksida 6 N* pada bagian pertama, dan tambahkan beberapa tetes *kaliun bikromat LP* pada bagian kedua: tidak terjadi kekeruhan pada kedua larutan.

**Cemaran umum <481>** Tidak lebih dari 1%.

*Larutan uji* Gunakan pelarut etanol mutlak P.

*Larutan baku* Gunakan pelarut etanol mutlak P.

**Fase gerak** Buat campuran *n-heksan P- etanol mutlak P-amonium hidroksida P* (70:30:1).

**Penampak bercak** Gunakan teknik penampak bercak nomor 17.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam campuran 20 ml *asam asetat glasial P* dan 10 ml *raksa(II) asetat LP*, hangatkan sebentar. Dinginkan hingga suhu ruang, titrasi dengan *asam perklorat 0,1N LV*, menggunakan indikator 2 tetes *kristal violet LP*. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 24,47 mg  $C_{11}H_{16}N_2O_2.HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TES MATA PILOKARPIN HIDROKLORIDA

### Pilocarpine Hydrochloride Eyes Drops

Tetes Mata Pilocarpin Hidroklorida adalah larutan Pilocarpin Hidroklorida dalam air, steril dan didapar. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_{11}H_{16}N_2O_2.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung antimikroba, stabilisator yang sesuai, dan zat tambahan yang sesuai untuk menambah viskositas.

**Baku pembanding** *Pilocarpin Hidroklorida BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi kromatogram puncak utama dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 3,5 dan 5,5.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran 300 ml larutan *amonium hidroksida P* dalam *isopropil alkohol P* (1 dalam 50) dan

700 ml *n-heksan P*. Saring melalui penyaring 0,5 µm sebelum digunakan.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Pilocarpin Hidroklorida BPF1*, buat larutan dengan kadar lebih kurang 1,6 mg per ml.

**Larutan uji** Ukur saksama sejumlah volume setara dengan lebih kurang 80 mg pilokarpin hidroklorida ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L3. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi pilokarpin hidroklorida lebih kurang 16 menit. Hitung jumlah dalam mg pilokarpin hidroklorida,  $C_{11}H_{16}N_2O_2.HCl$ , dalam tiap ml tetes mata yang digunakan dengan rumus:

$$50 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Pilocarpin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume tetes mata dalam ml; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PILOKARPIN NITRAT Pilocarpine Nitrate

*Pilocarpin mononitrat* [148-72-1]

$C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$

BM 271,27

Pilocarpin Nitrat mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$  dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur, putih, mengkilat; stabil di udara, dipengaruhi oleh cahaya.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam kloroform dan dalam eter. Larutan dalam air bereaksi asam terhadap kertas lakmus.

**Baku pembanding** *Pilocarpin Nitrat BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Pilokarpin Nitrat BPFI.

B. Campur larutan (1 dalam 10) dengan besi(III) sulfat LP volume sama, tuangkan campuran ke atas 5 ml asam sulfat P dalam tabung reaksi; batas kedua larutan menjadi cokelat.

**Jarak lebur** <1021> Antara 171° dan 176°, disertai peruraian, jarak antara awal dan akhir peleburan tidak lebih dari 3°.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +79,5° dan +82,5°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 200 mg per 10 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Klorida** <361> Pada 5 ml larutan (1 dalam 50), asamkan dengan asam nitrat P, tambahkan beberapa tetes perak nitrat LP; tidak segera terjadi kekeruhan.

**Zat mudah terarangkan** <411> Larutkan 100 mg zat dalam 5 ml asam sulfat LP; larutan tidak lebih berwarna dari Larutan padanan A.

**Alkaloid lain** Larutkan 200 mg zat dalam 20 ml air. Bagi larutan menjadi dua bagian. Pada bagian pertama, tambahkan beberapa tetes amonium hidroksida 6 N. Pada bagian kedua tambahkan beberapa tetes kalium bikromat LP; pada kedua larutan tidak terjadi kekeruhan.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 600 mg zat, larutkan dalam 30 ml asam asetat glasial P, hangatkan untuk mempermudah kelarutan, dinginkan hingga suhu ruang, titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 27,13 mg C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. HNO<sub>3</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### TETES MATA PILOKARPIN NITRAT Pilocarpine Nitrate Eyes Drops

Tetes Mata Pilokarpin Nitrat adalah larutan Pilokarpin Nitrat dalam air, steril dan didapar. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HNO<sub>3</sub>, dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung bahan antimikroba, stabilisator yang

sesuai, dan zat tambahan yang sesuai untuk menambah viskositas.

**Baku pembanding Pilokarpin Nitrat BPFI**; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar.

B. Memenuhi uji Identifikasi B pada Pilokarpin Nitrat.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 5,5.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Tetes Mata Pilokarpin Hidroklorida dengan mengganti pilokarpin hidroklorida dengan pilokarpin nitrat. Hitung jumlah dalam mg pilokarpin nitrat, C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HNO<sub>3</sub>, dalam tiap ml tetes mata dengan rumus:

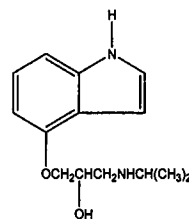
$$50 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Pilokarpin Nitrat BPFI dalam mg per ml Larutan baku; V adalah volume tetes mata dalam ml; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### PINDOLOL

#### Pindolol



1-(Indol-4-iloksi)-3-(isopropilamino)-2-propanol [13523-86-9]

C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

BM 248,32

Pindolol mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih atau hampir putih; tidak berbau atau hampir berbau.

**Kelaurutan Praktis** tidak larut dalam air; sukar larut dalam etanol mutlak dan dalam kloroform; agak sukar larut dalam metanol.

**Baku pembanding Pindolol BPF1**; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Pindolol BPF1.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 50.000) dalam asam klorida-metanol 0,01 N menunjukkan maksimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada Pindolol BPF1

C. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti diperoleh pada Penetapan kadar.

**Jarak lebur <1021>** Antara 169° dan 173°, rentang antara awal dan akhir peleburan tidak lebih dari 3°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpi.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,5%, dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran 65 bagian natrium asetat 0,05 M yang sebelumnya telah diatur hingga pH 5,0 menggunakan larutan asam asetat 0,05 M dengan 35 bagian asetonitril P, saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih halus. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>. Pengurangan jumlah asetonitril menghasilkan penurunan resolusi antara pindolol dan cemaran yang tereluasi pada puncak ikutan pindolol; penambahan jumlah asetonitril menghasilkan penurunan resolusi diantara cemaran dengan perpanjangan waktu retensi.

**Larutan resolusi, Larutan uji dan Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung persentase masing-masing cemaran yang terdapat dalam pindolol dengan rumus:

$$10.000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Pindolol BPF1 dalam mg per ml Larutan resolusi; W adalah bobot pindolol dalam mg dalam Larutan uji; r<sub>U</sub> adalah respons puncak salah satu cemaran dan r<sub>S</sub> adalah respon puncak pindolol Larutan resolusi.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran 65 bagian natrium asetat 0,05 M yang sebelumnya telah diatur hingga pH 5,0 menggunakan larutan asam asetat glasial P dengan 35 bagian asetonitril P. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih halus. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan resolusi** Buat larutan dalam Fase gerak yang mengandung Pindolol BPF1 lebih kurang 0,005 mg per ml dan indol lebih kurang 0,005 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 100 mg Pindolol BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 90 ml Fase gerak sonikasikan selama lebih kurang 5 menit. Dinginkan, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 90 ml Fase gerak, sonikasikan selama lebih kurang 5 menit. Dinginkan, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 219 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L10 dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif indol dan pindolol masing-masing adalah lebih kurang 0,5 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak indol dan pindolol tidak kurang dari 7; efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak pindolol tidak kurang dari 3000 lempeng teoritis, dan simpangan baku relatif respons puncak pindolol pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

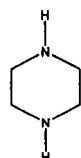
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg pindolol, C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Pindolol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *pindolol Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

## PIPERAZIN Piperazine



*Piperazin* [110-85-0]  
 $C_4H_{10}N_2$

BM 86,14

*Piperazin* mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_4H_{10}N_2$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Gumpalan atau lempeng, putih atau hampir putih; bau seperti amonia.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam etanol; tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Piperazin BPFi*.

**Warna larutan** Larutkan 10,0 g zat dalam air, encerkan dengan air hingga 50,0 ml; warna larutan tidak lebih tua dari warna larutan yang dibuat dengan menambahkan 2,0 ml larutan *besi(III) klorida LK* ke dalam air dan encerkan dengan air hingga 50,0 ml menggunakan tabung pembanding warna.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Piperazin BPFi*.

B. Bercak utama *Larutan uji 2* yang diperoleh pada *Kemurnian kromatografi* diamati setelah menyempatkan dengan larutan *ninhidrin LP*, mempunyai harga  $R_f$ , warna dan ukuran yang sama seperti diperoleh dari *Larutan baku 1*.

**Jarak lebur** <1021> Antara 109° dan 113°.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0 %.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran *aseton P-amonium hidroksida 13,5 N* (80:20), yang dibuat segar.

*Pelarut* Buat campuran *amonium hidroksida 13,5 N-etanol mutlak P* (3:2).

*Larutan baku 1* Buat larutan *Piperazin BPFi* dalam *Pelarut* dengan kadar lebih kurang 10 mg per ml.

*Larutan baku 2* Buat larutan *etilendiamina P* dalam *Pelarut* dengan kadar lebih kurang 0,25 mg per ml.

*Larutan baku 3* Buat larutan *trietilendiamin P* dalam *Pelarut* dengan kadar lebih kurang 0,25 mg per ml.

*Larutan resolusi* Buat larutan *trietilendiamin P* dan *Piperazin BPFi* dalam *Pelarut* dengan kadar berturut-turut lebih kurang 0,25 mg per ml dan 10 mg per ml.

*Larutan uji 1* Buat larutan zat dalam *Pelarut* dengan kadar lebih kurang 100 mg per ml.

*Larutan uji 2* Buat campuran 1 ml *Larutan uji 1* dan 9 ml *Pelarut*.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu$ l *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2*, *Larutan baku 3*, *Larutan resolusi*, *Larutan uji 1* dan *Larutan uji 2* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, dan keringkan pada suhu 105°. Semprot lempeng dengan larutan *ninhidrin P* 0,3% dalam campuran *n-butanol P-asam asetat glasial P* (100:3). Semprot ulang dengan larutan *ninhidrin P* 0,15% dalam *etanol mutlak P*, keringkan lempeng pada suhu 105° selama 10 menit, dan amati lempeng: bercak sekunder dari *Larutan uji 1* tidak lebih intensif dari bercak utama *Larutan baku 2* (0,25%). Semprot lempeng dengan *iodum 0,1 N LP*, biarkan selama 10 menit, amati lempeng: bercak yang sesuai dengan *trietilendiamin P* dari *Larutan uji 1* tidak lebih intensif dari bercak utama *Larutan baku 3* (0,25%). Penetapan tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dari *Larutan resolusi* menunjukkan bercak *trietilendiamin P* yang terpisah dengan jelas dari bercak utama. Abaikan bercak lain.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 150 mg zat, larutkan dalam 75 ml *asam asetat glasial P*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* tetapkan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan elektrode kaca-perak. Mendekati titik akhir hangatkan larutan pada suhu 60° hingga 70° kemudian lanjutkan titrasi. Lakukan penetapan blanko.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 4,307 mg  $C_4H_{10}N_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

## PIPERAZIN ADIPAT Piperazine Adipate

*Senyawa asam heksandiot piperazin* (1:1) [142-88-1]  
 $C_4H_{10}N_2 \cdot C_6H_{10}O_4$  BM 232,3

Piperazin Adipat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_4H_{10}N_2 \cdot C_6H_{10}O_4$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; melebur pada suhu lebih kurang  $250^\circ$  disertai peruraian.

**Kelarutan** Larut dalam 18 bagian air; praktis tidak larut dalam etanol 96%.

**Baku pembanding** Piperazin adipat BPFI.

**Identifikasi** Uji A dapat diabaikan apabila uji B dan C dilakukan. Uji B dan C dapat diabaikan apabila uji A dilakukan.

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Piperazin Adipat BPFI.

B. Pada penetapan senyawa sejenis, amati setelah penyemprotan lempeng kromatografi dengan ninhidrin LP. Letak, warna, dan ukuran bercak utama yang diperoleh dari larutan (2) sama dengan bercak utama larutan (3).

C. Ke dalam 10 ml larutan 5%, tambahkan 5 ml asam klorida P dan ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 10 ml eter P. Uapkan ekstrak eter yang diperoleh hingga kering, cuci dengan air dan keringkan pada suhu  $105^\circ$ : suhu lebur residu adalah  $150^\circ$  sampai  $154^\circ$ . Lakukan penetapan menurut Metode I seperti tertera pada Penetapan Jarak Lebur atau Suhu Lebur <1021>.

**Kejernihan larutan** <881> Harus jernih; lakukan penetapan menggunakan larutan 5%.

**Warna dan akromisitas** <1291> Metode III warna larutan tidak lebih intensif dari Larutan padanan U8; lakukan penetapan menggunakan larutan 5%.

**Logam berat** <371> Metode II Tidak lebih dari 20 bpj. Lakukan penetapan menggunakan larutan 5% dan Larutan baku timbal (1 bpj) sebagai pembanding.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Campuran aseton P-amonium hidroksida P (80:20).

*Pelarut* Campuran amonium hidroksida P-etanol mutlak P (3 : 2).

*Larutan 1* Larutan zat 10% dalam Pelarut.

*Larutan 2* Larutan zat 1% dalam Pelarut.

*Larutan 3* Larutan Piperazin adipat BPFI 1% dalam Pelarut.

*Larutan 4* Larutan etilendiamin 0,025 % dalam Pelarut.

*Larutan 5* Larutan trietilendiamin 0,025% dalam Pelarut.

*Larutan 6* Campuran trietilendiamin 0,025% dan zat uji 1,0% dalam Pelarut.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu$ l ke enam larutan pada lempeng kromatografi silika gel P, masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi Fase gerak, biarkan hingga merambat tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan pada suhu  $105^\circ$ . Semprot dengan larutan ninhidrin P 0,3% dalam campuran asam asetat glasial P-butanol P (3:100), kemudian dengan larutan ninhidrin P 0,15% dalam etanol mutlak P, keringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 10 menit. Bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari Larutan 1 tidak lebih kuat dari bercak Larutan 4. Semprot lempeng dengan larutan iodium 0,1 M LP; biarkan selama 10 menit. Bercak yang sesuai dengan bercak trietilendiamin yang diperoleh dari Larutan 1 tidak lebih intensif dari bercak Larutan 5. Penetapan absah jika kromatogram yang diperoleh dari Larutan 6 menunjukkan bercak trietilendiamin yang terpisah dengan jelas dari bercak utama. Dalam hal ini bercak lain dapat diabaikan.

**Sisa pemijaran** <301> Metode II Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Air** <1031> Metode I Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dalam 10 ml asam asetat glasial P, hangatkan hati-hati dan encerkan sampai 70 ml dengan pelarut sama. Tambahkan 0,25 ml naftolbenzein LP dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV hingga warna larutan berubah dari kuning kecokelatan menjadi hijau.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 11,61 mg  $C_4H_{10}N_2 \cdot C_6H_{10}O_4$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PIPERAZIN FOSFAT Piperazine Phosphate

Piperazin fosfat (1:1), monohidrat [18534-18-4]  
 $C_4H_{10}N_2 \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$  BM 202,15  
Anhidrat [14538-56-8] BM 184,13

Piperazin Fosfat mengandung tidak kurang dari 98,50% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_4H_{10}N_2 \cdot H_3PO_4$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; tidak berbau, atau hampir tidak berbau.

**Kelarutan** Larut dalam 60 bagian air; praktis tidak larut dalam etanol 96%.

**Baku pembanding** Piperazin fosfat BPFI.

### Identifikasi

A. Larutkan 100 mg zat dalam 5 ml air, tambahkan 500 mg *natrium bikarbonat P*, 0,5 ml larutan *kaliun heksasianoferat(III) P 5%* dan 0,1 ml *raksa P*. Kocok kuat selama 1 menit dan diamkan selama 20 menit: terjadi warna kemerahan secara perlahan-lahan.

B. Larutkan 200 mg zat dalam 5 ml *asam klorida 2 N*, sambil diaduk tambahkan 1 ml larutan *natrium nitrit P 50%*, dinginkan dalam es selama 15 menit, aduk jika perlu untuk mempercepat penghabluran. Cuci hablur dengan 10 ml air es, keringkan pada suhu 105°, lakukan *Penetapan Suhu Lebur <1021> Metode II*: suhu lebur lebih kurang 159°.

C. Menunjukkan reaksi *Fosfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**pH <1071>** Antara 6,0 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan 1%.

**Logam berat <371> Metode II** Tidak lebih dari 20 bpj; Larutkan 2,0 g dalam 20 ml *asam asetat 2 N*, gunakan 12 ml larutan uji dan *Larutan baku timbal (2 bpj)* sebagai pembanding.

**Air <1031> Metode I** Antara 8,0% dan 9,5%; lakukan penetapan menggunakan 250 mg zat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, larutkan dalam campuran 3,5 ml *asam sulfat 1 N* dan 10 ml air. Tambahkan 100 ml *trinitrofenol LP*, panaskan di atas tangas air selama 15 menit dan biarkan selama 1 jam. Saring dengan penyaring kaca masir porositas nomor 4, cuci residu beberapa kali, tiap kali dengan 10 ml campuran sama banyak larutan jenuh *2,4,6-trinitrofenol P* dan air sampai cairan cucian bebas sulfat. Cuci residu lima kali, tiap kali dengan 10 ml *etanol mutlak P*, keringkan pada suhu 100° - 150° hingga bobot tetap.

Tiap g residu  
setara dengan 338,2 mg  $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### TABLET PIPERAZIN FOSFAT Piperazine Phosphate Tablet

Tablet Piperazin Fosfat mengandung Piperazin Fosfat,  $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4.H_2O$  tidak kurang dari 92,5% dan tidak lebih dari 107,5% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Piperazin fosfat BPFI*.

**Identifikasi** Ekstraksi sejumlah serbuk tablet setara dengan 1 g piperazin fosfat dengan 20 ml air, saring filtrat, memenuhi uji sebagai berikut:

A. Encerkan 1 ml dengan air hingga 5 ml, tambahkan 500 mg *natrium bikarbonat P*; 0,5 ml larutan *kaliun*

*heksasianoferat(III) P 5%* yang dibuat segar dan 0,1 ml *raksa P*, kocok kuat selama 1 menit dan biarkan selama 20 menit: terjadi warna kemerahan secara perlahan-lahan.

B. Pada 4 ml tambahkan 1 ml *asam klorida P*, sambil diaduk dan 1 ml larutan *natrium nitrit P 50%*, dinginkan dalam es selama 15 menit, jika perlu aduk untuk mempercepat penghabluran. Lakukan *Penetapan Suhu Lebur <1021>* terhadap hablur yang telah dicuci dengan 10 ml air dingin, keringkan pada suhu 105°: suhu lebur lebih kurang 159°.

C. Menunjukkan reaksi *Fosfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*

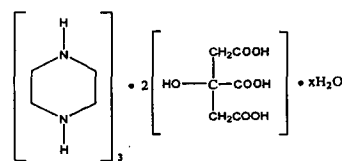
**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Tablet*.

**Penetapan kadar** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara 150 mg piperazin fosfat, kocok dengan 10 ml air selama 1 jam, saring dan cuci residu dua kali, tiap kali dengan 10 ml air. Pada kumpulan ekstrak dan cairan cucian tambahkan 5 ml *asam sulfat 2 N* dan 50 ml *trinitrofenol LP*, didihkan. Biarkan beberapa jam, saring melalui penyaring kaca masir porositas nomor 4, cuci residu beberapa kali, tiap kali dengan 10 ml campuran sama banyak larutan jenuh *2,4,6-trinitrofenol P* dan air sampai cairan cucian bebas sulfat. Cuci residu lima kali, tiap kali dengan 10 ml *etanol mutlak P*, keringkan pada suhu 100° - 105° hingga bobot tetap.

Tiap g residu  
setara dengan 371,4 mg  $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4.H_2O$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### PIPERAZIN SITRAT Piperazine Citrate



*Piperazin, 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat (3:2) hidrat* [41372-10-5]

$(C_4H_{10}N_2)_3.2C_6H_8O_7.xH_2O$

$(C_4H_{10}N_2)_3.2C_6H_8O_7$  [144-29-6]

BM 642,66

Piperazin Sitrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $(C_4H_{10}N_2)_3.2C_6H_8O_7$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih; hampir tidak berbau.

**Kelarutan** Larut dalam air; praktis tidak larut dalam etanol dan dalam eter. Larutan (1 dalam 10) menunjukkan pH lebih kurang 5.

**Baku pembanding** *Piperazin sitrat BPFI*.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Piperazin Sitrat BPFI.

B. Bercak utama Larutan uji 2 yang diperoleh pada Kemurnian kromatografi diamati setelah menyempatkan dengan larutan ninhidrin LP, mempunyai harga  $R_f$ , warna dan intensitas yang sama seperti diperoleh dari Larutan baku 1.

C. Menunjukkan reaksi sitrat seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

Air <1031> Metode I Tidak lebih dari 12,0%.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran aseton P-amonium hidroksida P 13,5 N (80:20), yang dibuat segar.

**Penampak bercak 1** Buat larutan ninhidrin P 0,3% dalam campuran n-butanol P-asam asetat glasial P (100:3).

**Penampak bercak 2** Buat larutan ninhidrin P 0,15% dalam etanol mutlak P.

**Penampak bercak 3** Gunakan iodium 0,1 N LP.

**Pelarut** Buat campuran amonium hidroksida 13,5 N - etanol mutlak P (3:2).

**Larutan baku 1** Buat larutan Piperazin Sitrat BPFI dalam Pelarut dengan kadar lebih kurang 10 mg per ml.

**Larutan baku 2** Buat larutan etilendiamin P dalam Pelarut dengan kadar lebih kurang 0,25 mg per ml.

**Larutan baku 3** Buat larutan trietilendiamin P dalam Pelarut dengan kadar lebih kurang 0,25 mg per ml.

**Larutan uji 1** Buat larutan dalam Pelarut yang mengandung zat dengan kadar lebih kurang 100 mg per ml.

**Larutan uji 2** Buat campuran 1 ml Larutan uji 1 dan 9 ml Pelarut.

**Larutan resolusi** Buat larutan trietilendiamin P dan zat dalam Pelarut dengan kadar masing-masing lebih kurang 0,25 mg per ml dan 10 mg per ml.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu$ l Larutan baku 1, Larutan baku 2, Larutan baku 3, Larutan resolusi, Larutan uji 1 dan Larutan uji 2 pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan Fase gerak dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, dan keringkan pada suhu 105°. Semprot lempeng dengan penampak bercak 1. Semprot ulang dengan penampak bercak 2, keringkan lempeng pada suhu 105° selama 10 menit, dan amati lempeng: bercak lain dari Larutan uji 1 tidak lebih intensif dari bercak utama Larutan baku 2 (0,25%). Semprot lempeng dengan penampak bercak 3, biarkan selama 10 menit, amati lempeng: bercak yang bersesuaian dengan trietilendiamin P dari Larutan uji 1 tidak lebih intensif dari bercak utama

Larutan baku 3 (0,25%). Penetapan absah, jika kromatogram yang diperoleh dari Larutan resolusi menunjukkan bercak trietilendiamin P yang terpisah dengan jelas dari bercak utama. Abaikan bercak lain.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, larutkan dalam 100 ml asam asetat glasial P, jika perlu hangatkan untuk mempercepat kelarutan. Tambahkan kristal violet LP dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 10,71 mg  $(C_4H_{10}N_2)_3 \cdot 2C_6H_8O_7$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### SIRUP PIPERAZIN SITRAT Piperazine Citrate Syrup

Sirup Piperazin Sitrat dibuat dari Piperazin Sitrat atau Piperazin dengan penambahan sejumlah asam sitrat yang setara. Mengandung Piperazin Sitrat setara dengan Piperazin Heksahidrat,  $C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$ , tidak kurang dari 93,0 % dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Pada 2 ml sirup tambahkan 5 ml asam klorida 3 N dan tambahkan 1 ml larutan natrium nitrit P (1 dalam 2) sambil diaduk. Dinginkan dalam tangas es selama 15 menit, jika perlu aduk untuk mempercepat penghabluran. Saring melalui penyaring kaca masir, cuci endapan dengan 10 ml air dingin, keringkan pada suhu 105°. N,N-dinitrosopiperazin yang diperoleh melebur pada suhu antara 156° dan 160°.

B. Menunjukkan reaksi Sitrat seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**Penetapan kadar** Tetapkan bobot jenis sirup. Timbang saksama sejumlah sirup setara dengan lebih kurang 200 mg piperazin sitrat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml. Tambahkan 10 ml air dan 75 ml trinitrofenol LP, aduk baik, biarkan dalam lemari es selama tidak kurang dari 2 jam. Kumpulkan endapan di dalam krus penyaring yang sudah di tara, cuci lima kali, tiap kali dengan 10 ml etanol mutlak P, dan keringkan pada suhu 105° hingga bobot tetap. [Perhatian Pikrat dapat meledak.] Bobot dipikrat yang diperoleh dikalikan 0,3568 adalah kesetaraan  $C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$  dalam sirup yang digunakan.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TABLET PIPERAZIN SITRAT Piperazine Citrate Tablet

Tablet Piperazin Sitrat mengandung Piperazin Heksahidrat,  $C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$ , setara dengan tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 200 mg piperazin sitrat, campur dengan 5 ml *asam klorida 3 N*, saring. Pada filtrat, tambahkan 1 ml larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 2) sambil diaduk. Dinginkan dalam tangas es selama 15 menit, jika perlu aduk untuk mempercepat penghabluran, saring melalui penyaring kaca masir, cuci endapan dengan 10 ml air dingin, keringkan pada suhu  $105^\circ$ ; N, N'-dinitrosopiperazin yang diperoleh melebur pada suhu antara  $156^\circ$  dan  $160^\circ$ .

B. Pada sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 500 mg piperazin sitrat, tambahkan 10 ml air, kocok, dan saring; filtrat menunjukkan reaksi *Sitrat*, seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi:* 900 ml air

*Alat tipe 2:* 50 rpm.

*Waktu:* 45 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$  yang terlarut seperti tertera pada *Penetapan kadar*, bila perlu melakukan modifikasi.

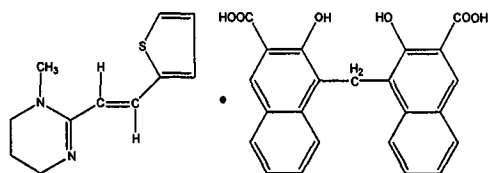
*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

*Penetapan kadar* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 200 mg piperazin sitrat, kocok dengan 10 ml campuran *asam klorida 3 N* dan air (1:3) selama 1 jam, saring, cuci sisa dua kali, tiap kali dengan 10 ml air. Pada kumpulan sari dan cairan cucian tambahkan 75 ml *trinitrofenol LP*, dan lanjutkan penetapan menurut cara *Penetapan kadar* seperti tertera pada *Sirup Piperazin Sitrat*, mulai dari "aduk baik"

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat.

## PIRANTEL PAMOAT Pyrantel Pamoate



(*E*)-1,4,5,6-tetrahidro-1-metil-2-[2-(2-tienil)vinil]  
pirimidina 4,4'-metilenbis[3-hidroksi-2-naftoat] (1:1)  
[22204-24-6]  
 $C_{11}H_{14}N_2S \cdot C_{23}H_{16}O_6$  BM 594,68

Pirantel Pamoat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{34}H_{30}N_2O_6S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

*Pemerian* Padatan; kuning hingga cokelat.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air dan dalam metanol; larut dalam dimetil sulfoksida; sukar larut dalam dimetil formamida.

*Baku pembanding* *Asam Pamoat BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara, pada suhu  $100^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Pirantel Pamoat BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara, pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Pirantel Pamoat BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan dalam *metanol P* ( $16 \mu\text{g}$  per ml), menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Pirantel Pamoat BPFi*.

C. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan menggunakan 1,33 g zat.

*Logam berat* <371> *Metode III* Tidak lebih dari 50 bpj.

*Besi* <331> Tidak lebih dari 75 bpj; lakukan penetapan menggunakan sisa dari uji *Sisa pemijaran*, tambahkan campuran *asam klorida P-asam nitrat P* (3:2) dan uapkan di atas tangas uap hingga kering. Larutkan sisa dalam 2 ml *asam klorida P* dengan pemanasan hati-hati. Tambahkan 18 ml *asam klorida P*, encerkan dengan air hingga 50 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan air hingga 47 ml.

### Senyawa sejenis

A. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.



*Fase gerak* Campuran etil asetat P-butanol P-air (10:1:1).

*Dapar glisina-natrium klorida-asam klorida* Campur 3 bagian volume larutan yang mengandung glisina P 0,3 M dan natrium klorida P 0,3 M dengan 7 bagian asam klorida 0,3 N.

*Penjerap* Kertas saring Whatman nomor 1 atau yang sejenis 18 cm x 56 cm diimpregnasikan dengan larutan segar yang dibuat dengan mencampur 7 bagian aseton P dan 3 bagian *Dapar glisina-natrium klorida-asam klorida*. Tekan merata kertas yang sudah diimpregnasi diantara pengering putih tidak berfluoresensi untuk menghilangkan kelebihan pelarut.

*Pelarut* Campuran kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P (50:50:5).

*Larutan 1* Larutan zat dengan kadar pirantel 20 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Larutan 2* Larutan zat dengan kadar pirantel 0,2 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Larutan 3* Larutan *Pirantel Pamoat BPF1* dengan kadar pirantel 20 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Larutan 4* Larutan *Pirantel Pamoat BPF1* dengan kadar pirantel 0,2 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Prosedur* Totolkan masing-masing 20 µl keempat larutan pada kertas kromatografi. Masukkan kertas ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan eluasi secara menurun seperti tertera pada *Kromatografi <931>* selama 16 - 20 jam. Angkat kertas, keringkan di udara selama 10 menit, masukkan ke dalam lemari pengering dengan udara mengalir dan keringkan pada suhu 60° selama 30 menit. Amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm: harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari *Larutan 1* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan 3* dan tidak ada bercak lain pada kromatogram *Larutan 1* selain bercak utama yang lebih besar dan intensif dari bercak utama *Larutan 2*.

B. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*

*Fase gerak* Campuran etil asetat P-metanol P-dietilamin P (200:50:15).

*Pelarut* Campuran kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P (50:50:5).

*Larutan 1* Larutan zat dengan kadar pirantel 20 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Larutan 2* Larutan zat dengan kadar pirantel 0,2 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Larutan 3* Larutan *Pirantel Pamoat BPF1* dengan kadar pirantel 20 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Larutan 4* Larutan *Pirantel Pamoat BPF1* dengan kadar pirantel 0,2 mg per ml dalam *Pelarut*.

*Prosedur* Totolkan masing-masing 100 µl keempat larutan pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm.

Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga 2 cm dari batas atas lempeng. Angkat lempeng dan biarkan kering di udara selama 10 menit dan amati di bawah cahaya ultraviolet: harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari *Larutan 1* sesuai dengan yang

diperoleh dari *Larutan 3* dan tidak ada bercak lain pada kromatogram *Larutan 1* selain bercak utama yang lebih besar dan intensif dari bercak utama *Larutan 2*.

**Kandungan asam pamoat** Antara 63,4% dan 67,3% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

*Fase gerak* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Asam pamoat BPF1*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,52 mg per ml. Masukkan 1,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Buat larutan seperti pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti pada *Penetapan kadar*. Hitung jumlah dalam mg  $C_{23}H_{16}O_3$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Asam Pamoat BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  adalah respons puncak asam pamoat *Larutan uji* dari *Penetapan kadar* dan  $r_S$  adalah dalam respons puncak asam pamoat *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** [Catatan Gunakan alat kaca aktinik rendah dalam penyiapan larutan pirantel pamoat, jika larutan tidak lindungi dari cahaya terang berlebih. Lakukan penetapan tanpa penundaan.] Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran asetonitril P-asam asetat P-air-dietilamin P (94:2,5:2,5:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>* [Catatan Penambahan jumlah asetonitril P pada *Fase gerak* dapat menaikkan waktu retensi. Penambahan jumlah asam asetat P, dietilamin P dan air pada *Fase gerak* dapat menurunkan waktu retensi. Jika *Fase gerak* perlu penyesuaian, pertahankan perbandingan antara asam asetat P-dietilamin P-air (1:0,4:1).]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Pirantel Pamoat BPF1*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 80 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 80 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Encerkan 1,0 ml larutan ini dengan *Fase gerak* hingga 10,0 ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 288 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L3. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak

seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak pirantel dan asam pamoat tidak kurang dari 10,0; jumlah lempeng teoritis ( $n$ ) puncak pirantel tidak kurang dari 8000; faktor ikutan ( $T$ ) puncak pirantel tidak lebih dari 1,1 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram yang diperoleh pada tenggang waktu tidak kurang dari 2,5 kali waktu retensi pirantel dan ukur respon puncak utama. Waktu retensi relatif asam pamoat dan pirantel berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0; Hitung persentase pirantel pamoat,  $C_{34}H_{30}N_2O_6S$ , dalam zat dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Pirantel Pamoat BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak pirantel dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## SUSPENSI ORAL PIRANTEL PAMOAT Pirantel Pamoate Oral Suspension

Suspensi Oral Pirantel Pamoat adalah suspensi Pirantel Pamoat dalam cairan pembawa yang sesuai. Mengandung Pirantel,  $C_{11}H_{14}N_2S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Pirantel Pamoat BPHI*; lakukan pengeringan dalam hampa udara, pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi [*Lihat Catatan dalam Penetapan kadar*]

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Lapisan atas pengocokan metil isobutil keton *P-asam format P-air* (2:1:1).

*Pelarut* Larutan amonium hidroksida 0,05 N dalam metanol *P*.

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Pirantel Pamoat BPHI*, tambahkan *Pelarut*, kocok secara mekanik dan sentrifus. Buat larutan dengan kadar lebih kurang 8 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan larutkan sejumlah serbuk tablet, lakukan seperti pada larutan baku hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 8 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 100  $\mu$ l *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P 20* cm x 20 cm setebal 0,5 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas

rambat dan biarkan kering. Amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet 365 nm; harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sama dengan *Larutan baku*.

B. Lakukan *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar glisin-natrium klorida-asam klorida P* Campur 3 bagian volume larutan yang mengandung *glisina P* dan *natrium klorida P* masing-masing 0,3 M dengan 7 bagian volume *asam klorida P 0,3 M*.

*Penjerap Kertas* kromatografi Whatman nomor 1 atau yang sejenis ukuran 18 x 24 cm yang disiapkan dengan cara sebagai berikut: impregnasikan kertas dengan larutan segar campuran 7 bagian *aseton P* dan 3 bagian larutan *Dapar glisin-natrium klorida-asam klorida P*. Tekan merata kertas yang sudah diimpregnasikan diantara pengering putih tidak berfluoresensi untuk menghilangkan kelebihan pelarut.

*Pelarut* Larutan amonium hidroksida 0,05 N dalam metanol *P*.

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Pirantel Pamoat BPHI* tambahkan *Pelarut*, kocok secara mekanik dan sentrifus. Buat larutan dengan kadar lebih kurang 16 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan larutkan sejumlah serbuk tablet, lakukan seperti pada larutan baku hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 16 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 20  $\mu$ l *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada kertas kromatografi. Masukkan kertas ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*. Eluasi secara menurun selama 20 jam. Angkat kertas, keringkan di udara selama 10 menit, masukkan ke dalam lemari pengering dengan udara mengalir dan keringkan pada suhu 60° selama 30 menit. Amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm; harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sama dengan *Larutan baku*.

A. Waktu retensi puncak utama pirantel dan asam pamoat pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 6,0.

**Penetapan kadar** [*Catatan* Gunakan alat kaca aktinik rendah dalam penyiapan larutan pirantel pamoat, jika tidak lindungi larutan dari cahaya terang berlebihan yang tidak perlu. Lakukan penetapan tanpa penundaan.] Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Buat seperti pada *Penetapan kadar* dalam *Pirantel Pamoat*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah suspensi setara dengan lebih kurang 200 mg pirantel pamoat ke dalam labu tentukur 100-ml, dispersikan dan encerkan dengan air sampai tanda. Selama pendispersian gunakan pengaduk magnetik. Pipet 1 ml dan masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, campur dan saring.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji*

ke dalam kromatograf, rekam kromatogram tidak kurang dari 2,5 kali waktu retensi pirantel dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif asam pamoat dan pirantel berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0; Hitung jumlah dalam mg pirantel,  $C_{11}H_{14}N_2S$ , dalam tiap ml suspensi dengan rumus:

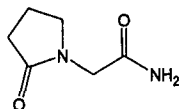
$$2500 (0,347) \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

0,347 adalah perbandingan bobot molekul pirantel dan pirantel pamoat;  $C$  adalah kadar Pirantel Pamoat BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $V$  adalah volume dalam ml suspensi oral yang digunakan;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak pirantel dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## PIRASETAM

### Piracetam



2-(2-Oksopiperidin-1-il)asetamida [7491-74-9]  
 $C_6H_{10}N_2O_2$  BM 142,2

Pirasetam mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_6H_{10}N_2O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian Serbuk;** putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; larut dalam etanol; menunjukkan polimorfisma.

**Baku pembanding** Pirasetam BPF1; simpan pada suhu 5°.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida  $P$  menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Pirasetam BPF1. Jika spektrum serapan inframerah zat padat menunjukkan serapan yang berbeda dengan Pirasetam BPF1, maka larutkan zat dan Pirasetam BPF1 dalam etanol  $P$  kemudian uapkan di atas tangas air. Lakukan penetapan menggunakan residu.

**Kejernihan larutan** <881> Jernih dan tidak berwarna; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam air yang mengandung 200 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan menggunakan 1 g zat pada suhu 100° - 105° hingga bobot tetap.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> Metode II Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan menggunakan 12 ml larutan 2,0 g zat dalam 20 ml air.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,1%; cemaran yang tidak diketahui tidak lebih dari 0,1% dan jumlah cemaran tidak lebih dari 0,3%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran asetonitril  $P$ -kalium fosfat dibasa  $P$  1 g per 1000 ml (10:90). Atur pH hingga 6,0 dengan penambahan asam fosfat encer  $P$ . Saring dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer** Buat campuran asetonitril  $P$ -air (10:90).

**Larutan baku 1** Timbang saksama lebih kurang 5 mg zat ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 10  $\mu$ l 2-pirolidon  $P$ , larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Larutan baku 2** Pipet 1 ml Larutan baku 1 ke dalam labu tentukur 100-ml. Encerkan dengan Pengencer sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Larutan baku 3** Timbang saksama lebih kurang 50 mg Pirasetam BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Larutan uji 1** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Larutan uji 2** Pipet 10 ml Larutan uji 1 ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 205 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 "end-capped" dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku 1, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi,  $R$ , antara pirasetam dan cemaran A tidak kurang dari 3,0; faktor ikutan tidak lebih dari 2,0; waktu retensi relatif cemaran A, cemaran B, cemaran C, cemaran D dan pirasetam berturut turut adalah lebih kurang 1,15; 2,8; 6,3; 0,8 dan 1,0.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) Larutan baku 1, Larutan baku 2 dan Larutan uji 1 ke dalam kromatograf dan lakukan kromatografi selama delapan kali waktu retensi pirasetam. Rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak kecuali puncak pelarut. Respons puncak cemaran

A, B, C, D yang diperoleh dari *Larutan uji 1* tidak lebih besar dari respons puncak utama *Larutan baku 2*; Respons puncak cemaran lain yang diperoleh dari *Larutan uji 1* tidak lebih besar dari respons puncak utama *Larutan baku 2*. Abaikan respons puncak cemaran yang lebih kecil dari 0,5 kali respons puncak utama *Larutan baku 2*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis*.

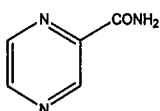
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku 3* dan *Larutan uji 2* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg pirasetam,  $C_6H_{10}N_2O_2$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$CF \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Pirasetam BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku 3*; F adalah faktor pengenceran *Larutan uji 2*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

## PIRAZINAMID Pirazinamide



*Pirazininkarboksamida* [98-96-4]  
 $C_5H_5N_3O$

BM 123,11

Pirazinamida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_5H_5N_3O$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga praktis putih; tidak berbau atau praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol, dalam eter dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Pirazinamida BPF1*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

## Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Pirazinamida BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (10  $\mu$ g per ml) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Pirazinamida BPF1*; serapan jenis masing-masing, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 268 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Didihkan 20 mg zat dengan 5 ml *natrium hidroksida 5 N*; tercium bau amoniak.

**Jarak Lebur <1021>** Antara 188° dan 191°.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat.

*Larutan baku dan Larutan uji* Buat *Larutan uji* dengan kadar 20 mg per ml dan *Larutan baku* dengan kadar dua kali *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, masukkan ke dalam labu Kjeldahl 500 ml, larutkan dalam 100 ml air dan tambahkan 75 ml *natrium hidroksida 5 N*. Hubungkan labu destilasi dengan alat pendingin yang baik. Atur pipa pengalir destilat hingga tercelup di bawah permukaan 20 ml larutan *asam borat P* (1 dalam 25) dalam labu penampung yang sesuai. Didihkan perlahan-lahan selama 20 menit, hindari terdestilasinya pelarut, kemudian didihkan kuat-kuat sampai amonia terdestilasi sempurna. Jika perlu dinginkan destilat, tambahkan *ungu metil LP*, titrasi dengan *asam klorida 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko, jika perlu lakukan koreksi.

Tiap ml asam klorida 0,1 N  
setara dengan 12,31 mg  $C_5H_5N_3O$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TABLET PIRAZINAMIDA Pirazinamide Tablet

Tablet *Pirazinamida* mengandung *Pirazinamida*,  $C_5H_5N_3O$  tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Pirazinamida BPF1*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Pada sejumlah serbuk tablet setara dengan 1 g pirazinamida, tambahkan 75 ml *isopropanol P*, panaskan di atas tangas uap, saring selagi panas. Biarkan dingin, saring hablur yang terbentuk dan keringkan pada suhu 105° selama 1 jam. Spektrum serapan inframerah hablur yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Pirazinamida BPF1*. Bila terjadi perbedaan, larutkan keduanya (hablur kering dan *Pirazinamida BPF1*) dalam *aseton P*, uapkan larutan sampai kering, dan ulangi penetapan menggunakan residu.

B. Hablur kering yang diperoleh pada *Identifikasi A*, memenuhi reaksi *Identifikasi B* seperti tertera pada *Pirazinamida*.

C. Pada 20 mg hablur kering yang diperoleh pada *Identifikasi A*, tambahkan 5 ml *natrium hidroksida 5 N*, panaskan hati-hati di atas nyala api: tercium bau amoniak.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi*: 900 ml air

*Alat tipe 2*: 50 rpm

*Waktu*: 45 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_5H_5N_3O$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, bandingkan dengan serapan larutan baku *Pirazinamida BPF1* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 268 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_5H_5N_3O$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.**

**Penetapan kadar**

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Pirazinamida BPF1*, larutkan dalam air, encerkan jika perlu secara bertahap dengan air, hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg pirazinamida, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml dengan bantuan 200 ml air. Biarkan selama lebih kurang 10 menit sambil sesekali digoyang, tambahkan air sampai tanda. Saring melalui penyaring kering ke dalam labu kering, buang sejumlah filtrat pertama. Pipet 5 ml filtrat ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

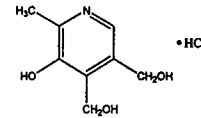
*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 268 nm menggunakan air sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg pirazinamida,  $C_5H_5N_3O$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$10 C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Pirazinamida BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**PIRIDOKSIN HIDROKLORIDA**  
**Pyridoxine Hydrochloride**



*Piridoksol hidroklorida* [58-56-0]

$C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$

BM 205,64

Piridoksin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%,  $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur; putih atau hampir putih; stabil di udara; secara perlahan-lahan dipengaruhi oleh cahaya matahari.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam eter. Larutan mempunyai pH lebih kurang 3,0.

**Baku pembanding** *Piridoksin Hidroklorida BPF1*, lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Piridoksin Hidroklorida BPF1*.

B. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A*, *B*, dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara, di atas *silika gel P* selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 30 bpj.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan *Larutan uji* dengan kadar 20 mg per ml dan *Larutan baku* dengan kadar dua kali *Larutan uji*.

**Kandungan klorida** Tidak kurang dari 16,9% dan tidak lebih dari 17,6% Cl dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dengan 50 ml *metanol P* dalam labu Erlenmeyer

bersumbat kaca. Tambahkan 5 ml *asam asetat glasial P* dan 2-3 tetes *eosin Y LP* dan titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV*.

Tiap ml *perak nitrat 0,1 N*  
setara dengan 3,545 mg *Cl*

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran 20 ml *asam asetat glasial P*, 1,2 g *natrium 1-heksansulfonat P* dan lebih kurang 1400 ml air dalam labu tentukur 2000-ml. Atur pH hingga 3,0 dengan penambahan *asam asetat glasial P* atau *natrium hidroksida 1 N*. Tambahkan 470 ml *metanol P*, encerkan dengan air sampai tanda dan saring dengan penyaring 0,5  $\mu\text{m}$ . Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku internal** Timbang saksama sejumlah *asam p-hidroksi benzoat P*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 5 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Piridoksin Hidroklorida BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Masukkan 10,0 ml larutan ini dan 1,0 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung lebih kurang 0,05 mg.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Masukkan 10,0 ml larutan ini dan 1,0 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak piridoksin dan asam p-hidroksi benzoat tidak kurang dari 2,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif piridoksin dan asam p-hidroksi benzoat masing-masing adalah lebih kurang 0,7 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg piridoksin hidroklorida,  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3\cdot\text{HCl}$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Piridoksin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah

perbandingan respons puncak piridoksin terhadap baku internal dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET PIRIDOKSIN HIDROKLORIDA Pyridoxine Hydrochloride Tablet

Tablet Piridoksin Hidroklorida mengandung Piridoksin Hidroklorida,  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3\cdot\text{HCl}$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Piridoksin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Pada sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg zat, tambahkan lebih kurang 5 ml air, kocok. Saring ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 2 atau 3 tetes *besi(III) klorida LP*: terjadi warna jingga sampai merah tua.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.  
*Prosedur keseragaman kandungan*

**Larutan uji** Pindahkan 1 tablet yang sebelumnya telah digerus, ke dalam labu tentukur 500-ml yang berisi lebih kurang 300 ml air, kocok selama lebih kurang 30 menit, dan encerkan dengan air sampai tanda. Saring larutan, buang 25 ml filtrat pertama. Encerkan filtrat berikutnya secara kuantitatif dan bertahap dengan larutan *asam klorida P* (1 dalam 100) hingga diperoleh larutan yang mengandung piridoksin hidroklorida lebih kurang 10  $\mu\text{g}$  per ml.

**Larutan baku** Larutkan sejumlah *Piridoksin Hidroklorida BPFi* yang ditimbang saksama dalam larutan *asam klorida P* (1 dalam 100), encerkan secara bertahap dengan pelarut yang sama sehingga memperoleh *Larutan baku* yang mengandung lebih kurang 10  $\mu\text{g}$  per ml. Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 290 nm, dengan menggunakan larutan *asam klorida P* (1 dalam 100) sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg piridoksin hidroklorida,  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3\cdot\text{HCl}$ , dalam tablet dengan rumus:

$$C \left( \frac{T}{D} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Piridoksin Hidroklorida BPFi* dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan baku*; *T* adalah jumlah dalam mg piridoksin hidroklorida dalam tablet seperti tertera pada etiket; *D* adalah faktor pengenceran; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

### Disolusi <1231> Prosedur untuk gabungan sampel

Media disolusi: 900 ml air.

Alat tipe 2: 50 rpm.

Waktu: 45 menit.

Prosedur Lakukan penetapan jumlah  $C_8H_{11}NO_3.HCl$  yang terlarut seperti tertera pada Penetapan kadar tablet vitamin yang larut dalam air, yaitu niasin atau niasinamida, piridoksin hidroklorida, riboflavin, tiamin dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan Media disolusi, dan serapan larutan baku Piridoksin Hidroklorida BPHI dalam media yang sama.

Toleransi Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_8H_{11}NO_3.HCl$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Penetapan kadar

Dapar amonium klorida-amonium hidroksida Larutkan 16 g amonium klorida P dalam 70 ml air, tambahkan 16 ml amonium hidroksida P, encerkan dengan air hingga 100 ml, campur dan saring

Larutan klorimida Larutkan 40 mg 2,6-diklorokuinon klorimida P dalam 100 ml isopropanol P. Simpan larutan dalam lemari pendingin, gunakan dalam waktu sekitar satu bulan. Tidak boleh digunakan bila larutan berwarna merah muda.

Larutan baku persediaan Timbang seksama sejumlah Piridoksin Hidroklorida BPHI, larutkan dalam asam klorida 0,1 N, encerkan secara kuantitatif dengan pelarut yang sama hingga kadar 0,1 mg per ml. Simpan dalam botol cokelat di tempat dingin.

Larutan baku Encerkan 10,0 ml Larutan baku persediaan dengan air dalam labu tentukur 100-ml sampai tanda. Buat larutan setiap akan digunakan.

Larutan uji Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang seksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 10 mg piridoksin hidroklorida, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer dengan penambahan air. Tambahkan 5 ml larutan asam klorida P, encerkan dengan air hingga lebih kurang 250 ml dan panaskan di atas tangas uap sampai hancur sempurna. Dinginkan, pindahkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda, campur dan sentrifus sejumlah campuran. Gunakan bening sebagai Larutan uji.

### Prosedur

(a) Pipet 5 ml Larutan uji jernih ke dalam labu, tambahkan 25,0 ml isopropanol P. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam gelas ukur 25 ml atau tabung reaksi bertutup kaca. Tambahkan berturut-turut, kocok setiap penambahan 1,0 ml Dapar amonium klorida-amonium hidroksida, 1,0 ml larutan natrium asetat P (1 dalam 5) dan 1,0 ml air. Dinginkan sampai lebih kurang 25°, lalu tambahkan 1,0 ml Larutan klorimida, kocok kuat dalam waktu tepat 10 detik (tepat) dan dalam waktu tepat 60 detik setelah penambahan Larutan klorimida, tentukan serapan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 650 nm, gunakan air sebagai blangko. [Catatan Lakukan pembacaan segera untuk

menghindarkan kesalahan karena pemucatan.] Serapan dinyatakan dengan  $A_U$ .

(b) Ulangi prosedur (a) tetapi 1,0 ml air diganti dengan 1,0 ml larutan asam borat P (1 dalam 20). Serapan dinyatakan dalam  $A_U'$ .

(c) Ulangi prosedur (a) tetapi 5,0 ml Larutan uji diganti dengan 5,0 ml larutan baku. Serapan dinyatakan dalam  $A_S$ .

(d) Ulangi prosedur (c) tetapi 1,0 ml air diganti dengan 1,0 ml larutan asam borat P (1 dalam 20). Serapan dinyatakan dengan  $A_S'$ . Hitung jumlah dalam mg piridoksin hidroklorida,  $C_8H_{11}NO_3.HCl$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

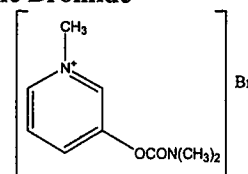
$$C \left( \frac{A_U - A_U'}{A_S - A_S'} \right)$$

C adalah kadar Piridoksin Hidroklorida BPHI dalam  $\mu g$  per ml Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

## PIRIDOSTIGMIN BROMIDA

### Pyridostigmine Bromide



3-Hidroksi-1-metilpiridinium bromida dimetil karbamat [101-26-8]

$C_9H_{13}BrN_2O_2$

BM 261,12

Piridostigmin Bromida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 100,5%,  $C_9H_{13}BrN_2O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Serbuk hablur; putih hingga praktis putih; bau khas enak; higroskopik.

Kelarutan Mudah larut dalam air, dalam etanol dan dalam kloroform; agak sukar larut dalam heksan; praktis tidak larut dalam eter.

Baku pembanding Piridostigmin Bromida BPHI; lakukan pengeringan dalam tabung pengering hampa udara menggunakan fosfor pentoksida P sebagai zat pengering pada suhu 100° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dalam desikator.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Piridostigmin Bromida BPFi.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (35 µg per ml) dalam asam klorida 0,1 N menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Piridostigmin Bromida BPFi; serapan jenis masing-masing, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 269 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Masukkan lebih kurang 100 mg zat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 0,6 ml natrium hidroksida 1 N: terjadi warna jingga. Panaskan: warna berubah menjadi kuning dan uap larutan membirukan kertas lakmus merah P.

D. Larutan (1 dalam 50) menunjukkan reaksi Bromida cara A dan B seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**Jarak lebur** <1021> Antara 154° dan 157°; lakukan penetapan menggunakan zat yang sebelumnya telah dikeringkan.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan dalam tabung pengering hampa udara, menggunakan fosfor pentoksida P sebagai zat pengering pada suhu 100° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

### Cemaran umum <481>

**Penjerap** Lempeng selulosa dengan indikator fluoresen.

**Larutan uji** Gunakan pelarut metanol P.

**Larutan baku** Gunakan pelarut metanol P.

**Fase gerak** Buat campuran metanol P-air (1:1).

**Penampak bercak** gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

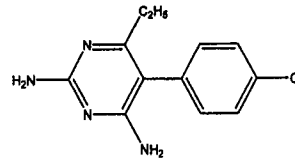
**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 850 mg zat, larutkan dalam 80 ml asam asetat glasial P. Tambahkan 25 ml raksa(II) asetat LP dan 2 tetes merah kuinaldin LP. Titrasi dengan asam perklorat dalam dioksan 0,1 N LV hingga tidak berwarna. Lakukan penetapan blangko, jika perlu lakukan koreksi.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N  
setara dengan 26,11 mg C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### PIRIMETAMIN Pyrimethamine



2,4-Diamino-5-(p-klorofenil)-6-etilpirimidina [58-14-0]  
C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub> BM 248,71

Pirimetamin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian Serbuk** hablur; putih; tidak berbau.

**Kelarutan** Sukar larut dalam aseton, dalam etanol, dan dalam kloroform; tidak larut dalam air.

**Baku pembanding** Pirimetamin BPFi; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Pirimetamin BPFi.

B. Pijarkan campuran lebih kurang 100 mg zat dengan 500 mg natrium karbonat anhidrat P. Dinginkan, tambahkan 5 ml air panas, panaskan di atas tangas uap selama 5 menit, saring dan netralkan filtrat dengan asam nitrat P: larutan menunjukkan reaksi Klorida cara A, B, dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

C. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Jarak lebur** <1021> Antara 238° dan 242°; lakukan penetapan menggunakan zat yang telah dikeringkan.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

### Cemaran umum <481>

**Larutan uji** Gunakan pelarut campuran metanol P-kloroform P (1:1).

**Larutan baku** Gunakan pelarut campuran metanol P-kloroform P (1:1).

**Fase gerak** Buat campuran n-propanol P-asam asetat glasial P-air (8:1:1).

**Penampak bercak** Gunakan teknik penampak bercak nomor 2.



**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan asam fosfat 0,1%* Masukkan 1 ml *asam fosfat P* ke dalam labu tentukur 1000-ml. Encerkan dengan air sampai tanda.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan asam fosfat 0,1%-asetonitril P* (83:17), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Pirimetamin BPFi*, larutkan dalam *Larutan asam fosfat 0,1%* hingga kadar lebih kurang 0,02 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Larutan asam fosfat 0,1%* hingga lebih kurang 0,02 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 10 cm x 2,0 mm berisi bahan pengisi *L11* dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 0,3 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: faktor kapasitas, k'*, tidak kurang dari 2,5; faktor ikutan tidak lebih dari 1,8; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µL) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam persentase *pirimetamin, C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub>*, dalam zat dengan rumus:

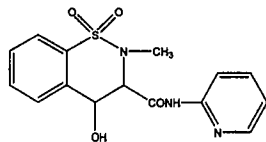
$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

100 adalah faktor konversi persen; *C<sub>s</sub>* adalah kadar *Pirimetamin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *C<sub>u</sub>* adalah kadar *Pirimetamin* dalam mg per ml *Larutan uji*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## PIROKSIKAM

### Piroxicam



*4-Hidroksi-2-metil-N-2-piridil-2H-1,2-benzotiazin-3-karboksamida 1,1-dioksida* [36322-90-4]  
*C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S*

BM 331,35

*Piroksikam* mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% *C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S*.

**Pemerian** Serbuk; hampir putih atau cokelat terang atau kuning terang; tidak berbau. Bentuk monohidrat berwarna kuning.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; dalam asam-asam encer dan sebagian besar pelarut organik; sukar larut dalam etanol dan dalam larutan alkali mengandung air.

**Baku pembanding** *Piroksikam BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Piroksikam BPFi*. Zat tidak boleh dikeringkan.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 10 µg per ml dalam *asam klorida P* dalam *metanol P* (1 dalam 1200) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Piroksikam BPFi*.

C. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Campuran *toluen P-asam asetat P* (95:5).

*Pelarut* Campuran *kloroform P-metanol P* (1:1).

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Piroksikam BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 1 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 20 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan kering di udara. Ulangi lagi seperti perlakuan sebelumnya, dan biarkan kering di udara. Amati lempeng di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm; harga *R<sub>f</sub>* bercak utama yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,3%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 50 bpi.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode V** Memenuhi syarat.

*Pelarut* Gunakan *dimetilsulfoksida P*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar* Larutkan masing-masing sejumlah 7,72 g *asam sitrat anhidrat P* dalam 400 ml air dan 5,35 g *natrium fosfat dibasa P* dalam 100 ml air. Campur kedua larutan, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar-metanol P (55:45)* dan awaudarakan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Piroksikam BFFI*, larutkan dalam *asam klorida-metanol 0,01 N* hingga kadar lebih kurang 0,25 mg per ml. Pipet 10,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan lebih kurang 25 ml *asam klorida-metanol 0,01 N* dan 10,0 ml air, encerkan dengan *asam klorida-metanol 0,01 N* hingga tanda. Larutan mengandung lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *asam klorida-metanol 0,01 N* sampai tanda. Pipet 10,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml yang lain, tambahkan lebih kurang 50 ml *asam klorida-metanol 0,01 N* dan 20 ml air, encerkan dengan *asam klorida-metanol 0,01 N* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 500 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg piroksikam,  $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Piroksikam BFFI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak yang dihasilkan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## KAPSUL PIROKSIKAM Piroxicam Capsule

Kapsul *Piroksikam* mengandung piroksikam,  $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ , tidak kurang dari 92,5% dan tidak lebih dari 107,5% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Piroksikam BFFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Identifikasi** Larutkan sebagian isi kapsul dalam campuran *kloroform P-metanol P (1:1)* untuk memperoleh larutan yang mengandung kadar lebih kurang 1 mg per ml. Aduk menggunakan pengaduk mekanik selama 10 menit, saring: filtrat yang diperoleh memenuhi *Identifikasi C* seperti tertera pada *Piroksikam*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml cairan lambung buatan *LP* (tanpa enzim).

*Alat tipe I*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{15}H_{13}N_3O_4S$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikotot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Piroksikam BFFI* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 333 nm. [Catatan. Gunakan penyaring yang tidak menyerap piroksikam. Untuk membuat larutan baku, timbang saksama sejumlah *Piroksikam BFFI*, larutkan dalam *metanol P* agar diperoleh larutan persediaan dengan kadar lebih kurang 0,5 mg per ml sebelum dilakukan pengenceran dengan *Media disolusi*.]

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 8,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar*, *Fase gerak*, *Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Buat seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Piroksikam*.

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luar isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 50 mg piroksikam, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan lebih kurang 70 ml *asam klorida-metanol 0,01 N*, aduk menggunakan pengaduk mekanik selama 30 menit. Encerkan dengan *asam klorida-metanol 0,01 N* sampai tanda. Sentrifus larutan untuk memperoleh larutan bening. Pindahkan 10,0 ml beningan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 50 ml *asam klorida-metanol 0,01 N* dan 20 ml air, encerkan dengan *asam klorida-metanol 0,01 N* hingga tanda.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Piroksikam*. Hitung jumlah dalam mg piroksikam,  $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ , dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Piroksikam BPF<sub>I</sub> dalam mg per ml Larutan baku;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak yang dihasilkan dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET PIROKSIKAM

### Piroxicam Tablet

Tablet Piroksikam mengandung piroksikam, C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Baku pembanding Piroksikam BPF<sub>I</sub>; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Kocok sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 40 mg piroksikam dengan 10 ml kloroform P, saring, uapkan sampai kering. Spektrum serapan inframerah residu didispersikan dalam minyak mineral P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Piroksikam BPF<sub>I</sub>.

B. Spektrum serapan larutan ultraviolet residu 10 µg per ml dalam asam klorida P dalam metanol P (1 dalam 1200) menunjukkan maksimum hanya pada panjang gelombang 243 nm dan 334 nm.

#### Disolusi <1231>

Media disolusi: 900 ml asam klorida 0,01 N.

Alat tipe 2: 75 rpm.

Waktu: 40 menit.

Prosedur Lakukan penetapan jumlah piroksikam, C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot yang diencerkan dengan Media disolusi hingga kadar piroksikam lebih kurang 6 µg per ml dan serapan Larutan baku Piroksikam BPF<sub>I</sub> pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 334 nm menggunakan Media disolusi sebagai blangko.

Toleransi Dalam waktu 40 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q) C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Penetapan kadar

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Piroksikam BPF<sub>I</sub> ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan dengan asam klorida-metanol 0,1 N hingga diperoleh larutan dengan kadar mendekati Larutan uji.

Larutan uji Timbang dan serbuk haluskan 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan

lebih kurang 10 mg piroksikam, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Encerkan dengan asam klorida-metanol 0,1 N sampai tanda, saring. Buang filtrat pertama, pipet 5 ml filtrat ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam klorida-metanol 0,1 N sampai tanda.

Prosedur Ukur serapan Larutan baku dan Larutan uji pada panjang gelombang lebih kurang 334 nm menggunakan asam klorida-metanol 0,1 N sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg piroksikam, C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$2000C \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

C adalah kadar dalam mg per ml Piroksikam BPF<sub>I</sub> dalam Larutan baku;  $A_u$  dan  $A_s$  berturut-turut adalah serapan Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## PLASMA SEGAR BEKU

### Plasma Segar Beku untuk Infus

#### Fresh Frozen Plasma

Plasma Segar Beku dibuat dari beningan hasil sentrifus darah yang berasal dari satu donor, mengandung tidak kurang dari 50% aktivitas faktor VIII donor. Darah donor disentrifus dalam waktu tertentu sehingga lapisan bagian atas mengandung sedikit mungkin komponen sel darah. Beningan dipisahkan dengan cara tertentu dengan sistem tertutup untuk mencegah kontaminasi mikroba baik terhadap plasma maupun komponen sel darah. Wadah segera ditutup kedap dan didinginkan pada suhu -30° atau lebih rendah. Pendinginan dilakukan secepat mungkin, pada keadaan tertentu dalam waktu 18 jam sejak pengambilan darah.

Pemerian Bila dicairkan zat berwarna kuning muda sampai agak tua, dapat keruh disebabkan adanya lemak.

Identifikasi Cairkan pada suhu tidak lebih dari 37°, pada 1 ml tambahkan segera 0,2 ml larutan kalsium klorida P 2,5% terbentuk koagulasi yang akan dipercepat dengan inkubasi pada suhu 37°.

Hemolisin <211> Sediaan yang menunjukkan reaksi positif pada Uji hemolisin, hanya aman digunakan untuk tranfusi pada penerima dengan golongan darah O. Lakukan penetapan terhadap Plasma Segar Beku yang berasal dari darah golongan O.

Sterilitas <71> Memenuhi syarat.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah steril tertutup kedap pada suhu tidak lebih dari -30° hingga saat digunakan. Kecuali pada waktu transportasi, lakukan tidak lebih dari 30 menit.

## **PLESTER BEDAH ZINK OKSIDA Zink Oxide Surgical Adhesive Tape**

Plester Bedah Zink Oksida terdiri dari kain tenunan sederhana dengan benang katun, benang viskosa atau campuran benang katun dan viskosa arah memanjang dan melebar. Kain dilapis dengan bahan perekat mengandung zink oksida yang tidak terkelupas jika gulungan dibuka. Kain harus bersih, bebas kerusakan tenunan dan hanya mengandung sesepora sisa daun, kulit biji dan pengotoran lain. Dapat berpori teratur. Perekat dapat berpori atau tembus uap air dan udara. Plester tersedia dalam bentuk gulungan, dapat diwarnai seperti warna kulit.

**Identifikasi Serat <841>** Lakukan seperti tertera pada uji *katun* atau *viskosa* atau keduanya menggunakan kain bebas perekat.

**Jumlah benang per 10 cm** Jumlah benang arah memanjang tidak kurang dari 280; jumlah arah melebar tidak kurang dari 265; lakukan penetapan seperti tertera pada *Pembalut tidak meregang Metode II* dalam *Jumlah benang per Satuan Panjang <871>*.

**Perforasi** Jika berpori, diameter pori 3 - 5 mm dan luas tidak lebih dari 14% dari luas seluruh kain.

**Bobot massa perekat** Tidak kurang dari 115 g per m<sup>2</sup>; lakukan penetapan seperti tertera pada uji *Bobot massa perekat, sediaan tanpa perekat Metode I*, dalam *Bobot per Satuan Luas <771>*.

**Bobot kain** Tidak kurang dari 125 g per m<sup>2</sup>; lakukan penetapan seperti tertera pada *Sediaan dengan perekat Metode I* dalam *Bobot per Satuan Luas <771>*.

**Kadar zink oksida dalam massa perekat <421>** Tidak kurang dari 10,0%.

**Daya rekat <791>** Memenuhi syarat.

**Permeabilitas uap air <1151>** Tidak kurang dari 500 g per m<sup>2</sup> per 24 jam untuk plester berpori.

**Beban regang minimum <761> Metode I** Tidak kurang dari 40 N (lebih kurang 4,0 kgf) per cm untuk kain tak berpori: tidak kurang dari 20 N (lebih kurang 2,0 kgf) untuk kain berpori.

**Sambungan** Tidak boleh ada sambungan untuk plester dengan panjang kurang dari 3 m; boleh ada sambungan tidak lebih dari satu untuk plester dengan panjang 3 m atau lebih.

**Lebar** Tidak boleh berbeda lebih dari ± 1,5 mm dari yang tertera pada etiket untuk plester dengan lebar tidak lebih dari 5 cm; tidak boleh berbeda lebih dari ± 2,5 mm dari yang tertera pada etiket untuk plester dengan lebar lebih dari 5 cm.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat baik, terlindung cahaya, pada suhu tidak lebih dari 25°.

## **PLESTER SINTETIK PERMEABEL TIDAK DITENUN Permeable Non-Woven Surgical Synthetic Adhesive Tape**

Plester Sintetik Permeabel Tidak Ditenun terdiri dari penyangga bahan dasar kertas atau bahan kain tidak ditunen yang dilapisi rata dengan massa perekat polimer, yang tidak mengelupas jika gulungan dibuka dan jika digunakan pada kondisi normal tidak terlepas dari penyangganya. Plester dapat ditembus udara dan uap air. Tersedia dalam bentuk gulungan pada gelendong atau poros.

**Bobot bahan penyangga** Tidak kurang dari 34 g per m<sup>2</sup>, lakukan penetapan seperti tertera pada *Sediaan dengan perekat Metode II* dalam *Bobot per Satuan Luas <771>*.

**Bobot massa perekat** Tidak kurang dari 20 g per m<sup>2</sup>; lakukan penetapan seperti tertera pada *Bobot massa perekat dan Sediaan dengan perekat Metode II* dalam *Bobot per Satuan Luas <771>*.

**Daya rekat <791>** Memenuhi syarat.

**Permeabilitas uap air <1151>** Tidak kurang dari 500 g per m<sup>2</sup> per 24 jam.

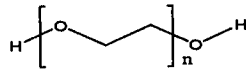
**Beban regang minimum <761> Metode I** tidak kurang dari 8 N (lebih kurang 0,8 kgf) per cm dari lebar potongan nominal, atau yang tertera.

**Sambungan** Tidak boleh ada sambungan untuk plester dengan panjang kurang dari 3 m; boleh ada sambungan tidak lebih dari satu untuk plester dengan panjang 3 m atau lebih.

**Lebar** Tidak boleh berbeda lebih dari ± 1,5 mm dari yang tertera pada etiket untuk plester dengan lebar tidak lebih dari 5 cm; tidak boleh berbeda lebih dari ± 2,5 mm dari yang tertera pada etiket untuk plester dengan lebar lebih dari 5 cm

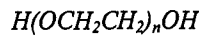
**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya pada suhu tidak lebih dari 25°.

**POLIETILEN GLIKOL**  
**PEG**  
**Makrogol**  
**Polyethylene Glycol**



*Polietilen glikol* [25322-68-3]

Polietilen Glikol adalah suatu polimer tambahan dari etilen oksida dan air dinyatakan dengan rumus:



*n* adalah jumlah rata-rata gugus oksietilen. Bobot molekul rata-rata tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari nilai nominal yang tertera pada etiket bila nilai yang tertera pada etiket di bawah 1000; tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari nilai nominal yang tertera pada etiket bila nilai nominal yang tertera pada etiket antara 1000 dan 7000; tidak kurang dari 87,5% dan tidak lebih dari 112,5% dari nilai nominal yang tertera pada etiket bila nilai nominal yang tertera pada etiket di atas 7000.

**Pemerian Umumnya** ditentukan dengan bilangan yang menunjukkan bobot molekul rata-rata. Bobot molekul rata-rata menambah kelarutan dalam air, tekanan uap, higroskopisitas, dan mengurangi kelarutan dalam pelarut organik, suhu beku, berat jenis, suhu nyala dan naiknya kekentalan.

Bentuk cair umumnya jernih dan berkabut, cairan kental, tidak berwarna atau praktis tidak berwarna, agak higroskopik, bau khas lemah. Bobot jenis pada suhu 25° lebih kurang 1,12.

Bentuk padat biasanya praktis tidak berbau dan tidak berasa, putih, licin seperti plastik mempunyai konsistensi seperti malam, serpihan butiran atau serbuk, putih gading. Pada tabel di bawah ini menunjukkan suhu beku rata-rata, sesuai sifat pada umumnya dari masing-masing mutu.

Bobot molekul nominal polietilen glikol	Suhu beku rata-rata (°)
300	-11
400	6
600	20
900	34
1000	38
1450	44
3350	56
4500	58
8000	60

**Kelarutan** Bentuk cair bercampur dengan air, bentuk padat mudah larut dalam air, larut dalam aseton, dalam etanol 95%, dalam kloroform, dalam etilen glikol monoetil eter, dalam etil asetat dan dalam toluen; tidak larut dalam eter dan dalam heksan.

**Kesempurnaan melarut dan warna larutan** Larutan 5 g dalam 50 ml air tidak berwarna: jernih untuk bentuk cair dan tidak lebih dari agak berkabut dari bentuk padat.

**Kekentalan** <1051> Lakukan uji kentalan dengan menggunakan viskosimeter kapiler dengan waktu aliran tidak kurang dari 200 detik, dan suhu tangas cairan dijaga pada 98,9±0,3°C (210°F). Batas-batas kekentalan dinyatakan dalam tabel berikut. Untuk polietilen glikol yang tidak setara dalam tabel, hitung kekentalannya dengan interpolasi.

Bobot Molekul Nominal Rata-rata	Rentang Kekentalan Sentistokes	Bobot Molekul Nominal Rata-rata	Rentang Kekentalan Sentistokes
200	3,9 hingga 4,8	2400	49 hingga 65
300	5,4 hingga 6,4	2500	51 hingga 70
400	6,8 hingga 8,0	2600	54 hingga 74
500	8,3 hingga 9,6	2700	57 hingga 78
600	9,9 hingga 11,3	2800	60 hingga 83
700	11,5 hingga 13,0	2900	64 hingga 88
800	12,5 hingga 14,5	3000	67 hingga 93
900	15,0 hingga 17,0	3250	73 hingga 105
1000	16,0 hingga 19,0	3400	76 hingga 110
1100	18,0 hingga 22,0	3500	87 hingga 123
1200	20,0 hingga 24,5	3750	99 hingga 140
1300	22,0 hingga 27,5	4000	110 hingga 158
1400	24 hingga 30	4250	123 hingga 177
1450	25 hingga 32	4500	140 hingga 200
1500	26 hingga 33	4750	155 hingga 228
1600	28 hingga 36	5000	170 hingga 250
1700	31 hingga 39	5500	206 hingga 315
1800	33 hingga 42	6000	250 hingga 390
1900	35 hingga 45	6500	295 hingga 480
2000	38 hingga 49	7000	350 hingga 590
2100	40 hingga 53	7500	405 hingga 735
2200	43 hingga 56	8000	470 hingga 900
2300	46 hingga 60		

**Bobot molekul rata-rata**

*Larutan anhidrida ftalat* Masukkan 49,0 g *anhidrida ftalat P* ke dalam botol cokelat dan larutkan dalam 300 ml *piridin P* yang baru didestilasi pada anhidrida ftalat berlebih. Kocok kuat hingga larut sempurna. Tambahkan 7 g *imidazol P*, goyang hati-hati agar larut dan biarkan selama 16 jam sebelum digunakan.

*Larutan uji untuk polietilen glikol cair* Masukkan hati-hati 25,0 ml *Larutan anhidrida ftalat* ke dalam botol bertekanan yang tahan panas dan kering. Kemudian tambahkan hati-hati sejumlah cuplikan yang telah ditimbang saksama setara dengan bobot molekul rata-rata yang diinginkan dibagi dengan 160. Tutup botol. Dan bungkus dengan kantong kain.

*Larutan uji untuk polietilen glikol padat* Masukkan hati-hati 25,0 ml *Larutan anhidrida ftalat* ke dalam botol bertekanan yang tahan panas dan kering. Kemudian masukkan sejumlah cuplikan yang telah ditimbang saksama setara dengan bobot molekul rata-rata yang diinginkan dibagi dengan 160; karena kelarutannya terbatas, jangan gunakan cuplikan lebih dari 25 g. Tambahkan 25 ml *piridin P*, yang baru didestilasi, goyang hingga larut sempurna. Tutup botol dan bungkus dengan kantong kain.

*Prosedur* Celupkan botol di dalam tangas air yang

dipertahankan pada suhu antara 96° dan 100° setinggi larutan dalam botol. Angkat botol dari tangas air setelah 5 menit, dan tanpa membuka pembungkus, goyang selama 30 detik agar homogen. Panaskan dalam tangas air selama 30 menit (60 menit untuk polietilen glikol yang mempunyai bobot molekul 3000 atau lebih), kemudian angkat botol dari tangas, biarkan dingin hingga suhu ruang. Buka tutup botol dengan hati-hati untuk melepas tekanan, ke luaran botol dari pembungkus, tambahkan 10 ml air, goyang. Tunggu 2 menit, tambahkan 0,5 ml larutan *fenolftalein P* dalam *piridin P* (1 dalam 100). Titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV* hingga terjadi warna merah muda yang pertama yang dapat bertahan selama 15 detik, *natrium hidroksida 0,5 N LV* dalam ml yang diperlukan dinyatakan sebagai *S*. Lakukan penetapan blangko terhadap 25,0 ml larutan *anhidrida fialat P* dan setiap penambahan *piridin P* ke dalam botol. Catat volume dalam ml dari *natrium hidroksida 0,5 N* yang dinyatakan sebagai *B*. Hitung bobot molekul rata-rata dengan rumus:

$$2000 \left( \frac{W}{N(B-S)} \right)$$

*W* adalah bobot polietilen glikol dalam g; *N* adalah normalitas larutan natrium hidroksida; (*B-S*) adalah perbedaan volume *natrium hidroksida 0,5 N* yang digunakan oleh blangko dan cuplikan.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
*Metode IV* Memenuhi syarat untuk benzen, kloroform, metilen dan trikloroetilena.

**pH <1071>** Antara 4,4 dan 7,5; lakukan penetapan secara potensiometrik dalam larutan yang dibuat dengan melarutkan 5,0 g zat dalam 400 ml *air bebas karbon dioksida P* dan tambahkan 0,3 ml larutan jenuh *kaliium klorida P*.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 25,0 g zat dan cawan platina yang telah ditara, sisa dibasahkan dengan 2 ml *asam sulfat P*.

**Arsen <321> Metode II** Tidak lebih dari 3 bpj.

**Batas etilen glikol dan dietilen glikol** Tidak lebih dari 0,25% dari jumlah etilen glikol dan dietilen glikol (Untuk polietilen glikol yang mempunyai bobot molekul nominal kurang dari 450).

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Buat larutan dalam air yang mengandung 500 µg *etilen glikol P* dan 500 µg *dietilen glikol P* per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 4 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda, campur.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan

kolom baja tahan karat 1,5 m x 3 mm yang berisi 12% bahan pengisi *G13* pada *SINS*. Pertahankan suhu injektor dan kolom masing-masing pada 260° dan 165°. Gunakan *nitrogen P* atau gas inert lain yang sesuai sebagai gas pembawa. Laju alir lebih kurang 70 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 2 µl *Larutan baku* ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala. Rekam kromatogram, sesuaikan kondisi percobaan hingga diperoleh puncak dengan tinggi tidak kurang dari 10 cm. Ukur tinggi puncak pertama (etilen glikol) dan puncak kedua (dietilen glikol). Nyatakan harga tersebut sebagai *P<sub>1</sub>* dan *P<sub>2</sub>*. Suntikkan lebih kurang 2 µl *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram pada kondisi yang sama seperti pada *Larutan baku*. Ukur tinggi puncak pertama (etilen glikol) dan tinggi puncak kedua (dietilen glikol) dan nyatakan harga tersebut sebagai *p<sub>1</sub>* dan *p<sub>2</sub>*. Hitung persentase etilen glikol dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_1}{W} \right) \left( \frac{P_1}{P_2} \right)$$

*C<sub>1</sub>* adalah kadar etilen glikol dalam µg per ml *Larutan baku*; *W* adalah berat polietilen glikol yang digunakan dalam mg.

Hitung persentase dietilen glikol dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_2}{W} \right) \left( \frac{P_2}{P_2} \right)$$

*C<sub>2</sub>* adalah kadar dietilen glikol dalam µg per ml *Larutan baku*.

**Batas etilen glikol dan dietilen glikol** Tidak lebih dari 0,25% dari jumlah etilen glikol dan dietilen glikol (Untuk polietilen glikol yang mempunyai bobot molekul nominal 450 atau lebih, tetapi tidak lebih dari 1000).

*Serium(IV) amonium nitrat* Larutkan 6,25 g *serium(IV) amonium nitrat P* dalam 100 ml *asam nitrat 0,25 N*. Gunakan dalam waktu 3 hari.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 62,5 mg *dietilen glikol P*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dalam campuran *asetonitril P* yang baru didestilasi-air (1:1), encerkan dengan campuran yang sama sampai tanda, campur.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50,0 g zat dalam 75 ml *difenileter P* dalam labu destilasi 250 ml, bila perlu yang sudah dihangatkan, hingga dapat melelehkan kristal. Destilasi perlahan-lahan pada tekanan 1 - 2 mmHg, ke dalam labu penampung berukuran 100 ml yang mempunyai tanda ukuran per jarak 1 mm hingga diperoleh 25 ml destilat. Tambahkan 20,0 ml air ke dalam destilat, kocok kuat dan biarkan lapisan memisah. Dinginkan dalam tangas es hingga *difenileter* mengeras untuk memudahkan pemisahan. Saring lapisan air yang terpisah melalui penyaring, cuci *difenileter* dengan 5,0 ml air es. Kumpulan filtrat dan air pencuci ke dalam labu tentukur 25-ml. Hangatkan hingga suhu ruang, encerkan

dengan air jika perlu sampai tanda. Campur larutan ini dengan 25,0 ml *asetonitril P* yang baru didestilasi dalam labu Erlenmeyer 125 ml bersumbat kaca.

*Prosedur* Sejumlah masing-masing 10,0 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji* masukkan secara terpisah ke dalam labu 50 ml yang masing-masing berisi 15,0 ml *serium(IV) amonium nitrat LP*, campur. Dalam waktu 2 menit sampai 5 menit, ukur serapan maksimum pada lebih kurang 450 nm, menggunakan blangko campuran 15,0 ml *serium(IV) amonium nitrat LP* dan 10,0 ml campuran *asetonitril P* yang baru didestilasi-air (1:1); serapan *Larutan uji* tidak lebih besar dari serapan *Larutan baku*.

**Etilen oksida dan 1,4-dioksan bebas** Tidak lebih dari 10 bpj etilen oksida atau 1,4-dioksan.

*Kepingan polietilen oksida 400* Masukkan sejumlah 3000 g polietilen glikol 400 ke dalam labu alas bulat 5000 ml berleher 4 dilengkapi dengan sebuah pengaduk, termometer, tabung dispersi gas, penangkap es kering, saluran pipa vakum dan sebuah mantel pemanas. Turunkan tekanan labu dengan hati-hati pada suhu ruang hingga lebih rendah dari 1 mmHg, menggunakan pompa vakum perlahan-lahan selama terbentuknya busa yang berlebihan karena adanya gas yang terperangkap. Sesudah busa habis, alirkan gas *nitrogen P*, biarkan tekanan naik menjadi 10 mmHg. Panaskan labu hingga suhu 60° sambil menaikkan tekanan hingga lebih kurang 60 mmHg. Lanjutkan pengupasan selama 4 jam, kemudian dinginkan hingga suhu ruang. Tutup pompa vakum dan naikan tekanan dalam labu kembali menjadi 1 atmosfer sambil masih tetap mengalirkan *nitrogen P*. Singkirkan tabung gas ketika gas *nitrogen P* masih mengalir, kemudian tutup aliran gas. Pindahkan *Kepingan polietilen glikol 400* ke dalam wadah berisi gas *nitrogen P* yang sesuai.

*Larutan baku* [Hati-hati karena etilen oksida dan 1,4-dioksan beracun dan mudah terbakar. Persiapkan larutan ini dalam lemari asam yang berventilasi baik.] Pada sejumlah air bebas bahan organik yang telah diketahui bobotnya dalam vial yang dapat disegel, tambahkan sejumlah 1,4-dioksan *P* yang sesuai. Jumlah yang ditambahkan dapat ditetapkan dengan menghitung perbedaan bobot. Lanjutkan penetapan secara hati-hati dengan mengikuti petunjuk di bawah ini. Etilen oksida bersifat gas pada suhu ruang. Biasanya disimpan dalam tabung silinder gas atau dalam kapsul kecil dari logam yang bertekanan. Dinginkan silinder dalam lemari pendingin sebelum digunakan. Pindahkan sejumlah lebih kurang 5 ml etilen oksida cair ke dalam gelas piala 100 ml yang didinginkan dalam es. Dengan menggunakan alat suntik gas yang rapat dan yang sudah didinginkan dalam lemari pendingin, suntikkan sejumlah etilen oksida cair ke dalam campuran di atas. Segera segel vial dan kocok. Tetapkan jumlah yang ditambahkan dengan menghitung perbedaan bobot.

*Enceran larutan baku* Buat 4 pengenceran *Kepingan polietilen glikol 400* dengan kadar berkisar antara 1 - 20 bpj untuk kedua komponen yang ditambahkan sesuai susunan (misalnya 5 bpj, 10 bpj, 15 bpj dan 20 bpj). Pipet secara terpisah sejumlah 10 ml masing-masing

*Enceran larutan baku* ke dalam vial 22 ml yang mempunyai ruang di atasnya dan bertekanan, segel masing-masing vial dengan penutup silikon dan tekan penutup pengaman aluminium dan kerutkan penutup menggunakan alat penyegel tutup. Kocok selama 2 menit.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah  $10 \pm 0,01$  g tuang ke dalam vial 22 ml yang mempunyai ruang di atasnya dan bertekanan, segel dan tutup serta kerutkan seperti yang dilakukan terhadap *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan sistem ruang atas untuk contoh dengan penyeimbang tekanan otomatis, detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler dari leburan silika 50 m x 0,32 mm berisi bahan pengisi G27 dengan tebal lapisan 5 µm sebagai fase diam. Atur suhu kolom dari 70° - 250° dengan kenaikan suhu 10° per menit dengan garis pemindahan pada suhu 140° dan detektor pada suhu 250°. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 2,9 ml per menit. Pada 2 titik kalibrasi tidak satu titikpun bergeser dari garis dasar lebih dari 10%.

*Kalibrasi* Letakkan vial berisi *Larutan baku* dalam pengambil contoh otomatis dan buat urutan kerja hingga tiap vial dipanaskan pada suhu 50° selama 30 menit sebelum sejumlah zat yang sesuai yang diambil dari sistem ruang atas untuk contoh, disuntikkan ke dalam kromatograf. Pasang pengambil contoh otomatis hingga alat suntik dapat ditarik setiap 0,3 menit, waktu penekanan 1 menit, waktu suntik 0,08 menit dan tekanan vial 22 psi dengan kipas vial dibuka. Dapatkan luas puncak etilen oksida dan 1,4-dioksan yang mempunyai waktu retensi relatif lebih kurang 1,0 dan 3,1. Buat kurva luas puncak terhadap kadar dalam bpj pada kertas grafik, dan tarik garis seluruh mungkin melalui titik-titik tersebut.

*Prosedur* Letakkan vial berisi *Larutan uji* dalam pengambil contoh otomatis dan kromatograf sistem ruang atas untuk contoh seperti dilakukan pada *Larutan baku*. Dapatkan luas puncak tiap komponen dan baca kadar langsung dari titik-titik kalibrasi.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## **POLIETILEN GLIKOL 400** **Makrogol 400** **Polyethylene Glycol 400**

BM 380 sampai 420

Polietilen Glikol 400 adalah polimer dari etilen oksida dan air, dinyatakan dengan rumus:  $H(O-CH_2CH_2)_nOH$ , dengan harga rata-rata *n* antara 8,2 dan 9,1.

**Pemerian** Cairan kental jernih, tidak berwarna atau praktis tidak berwarna; bau khas lemah; agak higroskopik.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam etanol, dalam aseton,

dalam glikol lain dan dalam hidrokarbon aromatik; praktis tidak larut dalam eter dan dalam hidrokarbon alifatik.

**Bobot jenis** <981> 1,110 - 1,140.

**Suhu beku** Antara 4° dan 8°. Suhu beku diperoleh dari harga rata-rata 4 pembacaan, suhu beku tertinggi dan terendah berbeda tidak lebih dari 0,4°.

**Keasaman dan kebasaan** Antara 4,5 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan 5%. Timbang 5,0 g zat, larutkan dalam 50 ml air, tambahkan beberapa tetes *merah fenol LP*. Jika larutan berwarna kuning, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,01 N LV*. Jika larutan berwarna merah, titrasi dengan *asam klorida 0,01 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 2,0 ml.

**Kekentalan** <1051> 6,8 - 8,0 cS pada suhu 99°, dinyatakan sebagai kekentalan kinematik.

**Arsen** <321> Tidak lebih dari 3 bpj.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 5 bpj; lakukan pengujian menggunakan larutan uji yang dibuat sebagai berikut: Campur 4,0 g zat dengan 5,0 ml *asam klorida P* 1% v/v, encerkan dengan air secukupnya hingga 25,0 ml.

**Bobot molekul rata-rata** Tidak kurang dari 380 dan tidak lebih dari 420; lakukan penetapan sebagai berikut:

*Larutan anhidrida ftalat-piridin* Timbang saksama lebih kurang 422 g *anhidrida ftalat P*, tambahkan pada 300 ml *piridin P* segar (diperoleh dengan merefluks menggunakan *barium oksida P*) yang mengandung air kurang dari 0,1% dalam labu 1 liter bersumbat kaca. Kocok kuat hingga larut sempurna, biarkan selama 1 malam.

*Prosedur* Timbang saksama lebih kurang 2,1 g zat, masukkan ke dalam labu tahan tekanan, tambahkan 25,0 ml *Larutan anhidrida ftalat-piridin*. Tutup labu, bungkus dengan kain dan celupkan dalam tangas air bersuhu 96° - 100° sedalam tinggi larutan dalam labu, selama 1 jam. Angkat labu, biarkan dingin hingga suhu ruang. Tambahkan 50,0 ml *natrium hidroksida 0,5 N* dan 5 tetes larutan *fenolftalein P* 1% dalam *piridin P*. Titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV* hingga warna merah muda stabil selama tidak kurang dari 15 detik. Lakukan penetapan blangko. Hitung bobot molekul rata-rata dengan mengalikan bobot dalam g, zat uji dengan 4000 dan membagi hasilnya dengan selisih volume dalam ml, *natrium hidroksida 0,5 N LV* yang diperlukan pada titrasi dan penetapan blangko.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Batas etilen glikol dan dietilen glikol** Larutkan 50 g zat dalam 75 ml *difenileter P* dalam labu destilasi 250 ml. Destilasi dalam hampa udara (1 - 2 mmHg) ke dalam labu penampung 100 ml berskala 1 ml, hingga diperoleh 25 ml destilat. Pada destilat tambahkan 25,0 ml air, kocok kuat

dan biarkan memisah. Dinginkan dalam tangas es. Saring lapisan air melalui kertas saring ke dalam bejana silinder 50 ml bersumbat kaca dan berskala. Pada filtrat tambahkan *asetonitril P* yang baru didestilasi volume sama, kocok hingga larut sempurna. Pipet 10 ml larutan ke dalam 15 ml *serium(IV) amonium nitrat LP*, campur. Dalam waktu 2 menit sampai 5 menit, ukur serapan larutan pada 525 nm. Lakukan penetapan blangko menggunakan 15 ml *serium(IV) amonium nitrat LP* dan 10 ml *asetonitril P* 50%. Serapan larutan tidak lebih besar dari serapan larutan dalam larutan *asetonitril P* 50% yang dalam tiap ml mengandung 3 mg *dietilen glikol P* dan tetapkan dengan cara yang sama, mulai dari: "Pipet 10 ml".

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## POLIMIKSIN B SULFAT Polymyxine B Sulphate

*Polimiksin B Sulfat* [1405-20-5]

Polimiksin B Sulfat adalah garam sulfat dari sejenis polimiksin, yaitu zat yang dihasilkan oleh biakan *Bacillus polymyxa* (Prazmowski) Migula (Familia *Bacillaceae*), atau campuran dari 2 atau lebih bentuk garamnya. Potensi tidak kurang dari 6000 unit Polimiksin B FI per mg, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk putih sampai kekuning-kuningan; tidak berbau atau bau khas lemah.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Polimiksin B Sulfat B PFI*; Lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin.

### Identifikasi

A. Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran *natrium fosfat tribasa 0,1 M-asetonitril P* (77:23), atur pH hingga 3,0 dengan penambahan *asam fosfat P*. Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Buat larutan *Polimiksin B Sulfat B PFI* dalam *Fase gerak* dengan kadar lebih kurang 3,5 mg per ml. Lindungi larutan dari cahaya.

*Larutan uji* Buat larutan zat dalam *Fase gerak* dengan kadar lebih kurang 3,5 mg per ml. Lindungi larutan dari cahaya.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 212 nm dan kolom 25 cm x



4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram. Kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku, menunjukkan respons puncak utama sesuai dengan polimiksin B1 dan waktu retensi relatif puncak polimiksin B2 dan polimiksin B3 berturut-turut lebih kurang 0,5 dan 0,6.

B. Larutan 2 mg zat uji dalam 5 ml air, tambahkan 5 ml larutan *natrium hidroksida 2,5 N*, campur, tambahkan 5 tetes larutan *tembaga(II) sulfat P* (1 dalam 100) tetes demi tetes, kocok: terjadi warna lembayung kemerahan.

C. Larutan (1 dalam 20) menunjukkan reaksi *Sulfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**pH <1071>** Antara 5,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 5 mg per ml.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 7,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, dalam hampa udara, pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan 100 mg.

**Fenilalanin** Antara 9% dan 12%, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 0,375 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *asam klorida 0,1 N* sampai tanda. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 264 nm, 258 nm dan 252 nm dan serapan pada 280 nm dan 300 nm. Hitung persentase fenilalanin dalam zat dengan rumus:

$$\left(\frac{9,4787}{W}\right)(A_{258} - 0,5A_{252} + 0,5A_{264} - 1,84A_{280} + 0,8A_{300})$$

W adalah bobot dalam g polimiksin B sulfat;  $A_{258}$ ,  $A_{252}$ ,  $A_{264}$ ,  $A_{280}$ ,  $A_{300}$  berturut-turut adalah serapan larutan pada panjang gelombang 258, 252, 264, 280, dan 300 nm.

**Syarat lain** Jika digunakan untuk pembuatan campuran dalam resep, harus memenuhi syarat *Sisa pemijaran <301>* seperti tertera pada *Polimiksin B untuk Injeksi*. Jika pada etiket dinyatakan steril, harus memenuhi syarat *Uji sterilitas <71>*, dan jika dinyatakan untuk sediaan injeksi, harus memenuhi syarat *Pirogen* seperti tertera pada *Polimiksin B untuk Injeksi*. Jika dinyatakan polimiksin B sulfat harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, harus memenuhi syarat *Pirogen <231>* seperti tertera pada *Polimiksin B untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Jika digunakan untuk pembuatan campuran dalam resep, pada etiket dinyatakan angka unit Polimiksin B per mg, dinyatakan tidak untuk penggunaan produksi, tidak untuk sediaan steril dan potensinya tidak bisa dijamin bila lebih dari 60 hari setelah dibuka. Jika digunakan untuk pembuatan injeksi atau sediaan steril lain, pada etiket dinyatakan steril, atau harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi.

## POLIMIKSIN B UNTUK INJEKSI Polymyxin B for Injection

Polimiksin B Untuk Injeksi mengandung polimiksin B sulfat setara dengan polimiksin B tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Polimiksin B Sulfat BPFI;** Lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin.

**Identifikasi** Secara *Kromatografi lapis tipis <281>* Memenuhi syarat.

**Larutan terkonstitusi** Memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi* pada saat akan digunakan.

**Pirogen <231>** Memenuhi syarat, lakukan penyuntikkan 1,0 ml per kg bobot kelinci, menggunakan larutan polimiksin B 20.000 unit per ml dalam salin bebas pirogen .

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat, jika diuji seperti tertera pada *Penyaringan membran dalam Uji sterilitas* dari produk yang diuji.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Logam berat <371>** *Metode III* Tidak lebih dari 100 bpj.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *pH <1071>* dan *Susut pengeringan <1121>* seperti tertera pada *Polimiksin B Sulfat*. Memenuhi syarat *Keseragaman sediaan <911>* dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

### Penetapan kadar

*Larutan uji 1* (wadah dosis tunggal). Konstitusikan zat dengan sejumlah air sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Ambil semua isi yang dapat diambil, menggunakan jarum hipodermik dan siring yang sesuai, encerkan dengan *Dapar no 6* hingga kadar unit Polimiksin B per ml yang diinginkan.

*Larutan uji 2* (etiket menunjukkan polimiksin B diberikan dalam sejumlah volume larutan terkonstitusi).

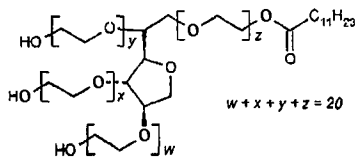
Konstitusikan satu wadah polimiksin B untuk injeksi dengan sejumlah air sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Pipet sejumlah volume larutan dan encerkan dengan *Dapar no 6* hingga kadar unit Polimiksin B per ml yang diinginkan.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan potensi antibiotik secara mikrobiologi <131>*, menggunakan sejumlah volume *Larutan uji* yang diukur saksama dan diencerkan secara kuantitatif dengan *Dapar no 6* hingga diperoleh enceran larutan uji dengan kadar yang setara dengan nilai tengah *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam *Wadah untuk padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*, terlindung cahaya.

**Penandaan** Pada etiket harus dinyatakan pemberian secara intramuskular dan/atau intratekal. Hanya diberikan pada pasien yang dirawat di rumah sakit, dan di bawah pengawasan dokter.

### POLISORBAT 20 Polysorbate 20



*Polioksietilen 20 sorbitan monolaurat* [9005-64-5]

Polisorbat 20 adalah ester laurat dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk setiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol.

**Pemerian Cairan**, kuning muda hingga coklat muda; bau khas lemah

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam etanol, dalam etil asetat, dalam metanol dan dalam dioksan; tidak larut dalam minyak mineral.

#### Identifikasi

A. Menunjukkan reaksi *Identifikasi A* dan *C* seperti tertera pada *Polisorbat 80*.

B. Pada 2 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan 0,5 ml *brom LP* tetes demi tetes; warna brom tidak hilang (berbeda dengan *Polisorbat 80*).

**Bilangan hidroksil** Antara 96 dan 108; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak <491>*.

**Bilangan penyabunan** Antara 40 dan 50; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak <491>*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat penetapan *Air, Sisa pemijaran, Arsen, Logam berat* dan *Bilangan asam* seperti tertera pada *Polisorbat 80*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### POLISORBAT 60 Polysorbate 60

*Polioksietilen 20 sorbitan monostearat*  
[Campuran biasanya mengandung asam lemak] [9005-67-8]

Polisorbat 60 adalah campuran ester stearat dan palmitat dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol.

**Pemerian Cairan** seperti minyak atau semi gel; kuning hingga jingga; berbau khas lemah.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam etil asetat dan dalam toluen; tidak larut dalam minyak mineral dan dalam minyak nabati.

#### Identifikasi

A. Menunjukkan reaksi *Identifikasi A* dan *C* seperti tertera pada *Polisorbat 80*.

B. Pada 2 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan 0,5 ml *brom LP* tetes demi tetes; warna brom tidak hilang (berbeda dengan *Polisorbat 80*).

**Bilangan hidroksil** Antara 81 dan 96; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak <491>*.

**Bilangan penyabunan** Antara 45 dan 55; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak <491>*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat penetapan *Air, Sisa pemijaran, Arsen, Logam berat* dan *Bilangan asam* seperti tertera pada *Polisorbat 80*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### POLISORBAT 80 Polysorbate 80

*Polioksietilen 20 sorbitan monooleat* [9005-65-6]

Polisorbat 80 adalah ester oleat dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol.

**Pemerian Cairan** seperti minyak, jernih, berwarna kuning muda hingga coklat muda; bau khas lemah; rasa pahit dan hangat.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air, larutan tidak berbau dan praktis tidak berwarna; larut dalam etanol, dalam etil asetat; tidak larut dalam minyak mineral.

#### Identifikasi

A. Pada 5 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan 5 ml *natrium hidroksida LP*. Didihkan beberapa menit, dinginkan dan asamkan dengan *asam klorida 3 N*: larutan beropalesensi kuat.

B. Pada 2 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan 0,5 ml *brom LP* tetes demi tetes: warna brom hilang.

C. Campur 60 volume zat dan 40 volume air: terbentuk massa gelatin pada suhu ruang dan di bawah suhu ruang.

**Bobot jenis** <981> Antara 1,06 dan 1,09.

**Kekentalan** <1051> Antara 300 dan 500 sentistokes pada suhu 25°.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 3,0%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,25%

**Arsen** <321> *Metode I* Tidak lebih dari 1 bpj.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 10 bpj.

**Bilangan asam** Tidak lebih dari 2,2; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang 10,0 g zat masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, dan tambahkan 50 ml *etanol netral P*. Panaskan di atas tangas uap hingga hampir mendidih, kocok sesekali secara hati-hati selama pemanasan. Tutup dengan gelas piala, dinginkan dengan air mengalir, tambahkan 5 tetes *fenolftalein LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 4 ml *natrium hidroksida 0,1 N*.

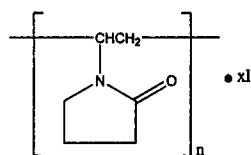
**Bilangan hidroksil** Antara 65 dan 80; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak* <491>.

**Bilangan penyabunan** Antara 45 dan 55; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak* <491>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## POVIDON IODUM

### Povidone Iodine



*Polimer 1-vinil-2-pirolidion,*  
*Bersenyawa dengan iodium* [25655-41-8]  
(C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO)<sub>n</sub>.Xi

Povidon Iodum adalah senyawa kompleks dari iodium dengan povidon. Mengandung tidak kurang dari 9,0% dan tidak lebih dari 12,0% iodium (I) dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk amorf, cokelat kekuningan; sedikit berbau khas. Larutan bereaksi asam terhadap kertas lakmus.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform, dalam karbon tetraklorida, dalam eter, dalam heksan dan dalam aseton.

#### Identifikasi

A. Tambahkan 1 tetes larutan (1 dalam 10) pada campuran 1 ml *kanji LP* dan 9 ml air: terjadi warna biru tua.

B. Sebarkan 1 ml larutan (1 dalam 10) di atas lempeng kaca 20 cm x 20 cm, dan biarkan semalam di udara terbuka pada suhu ruang dengan kelembaban rendah: terbentuk lapisan menyebar, kering, cokelat dan mudah larut dalam air.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 8,0%; lakukan penetapan menggunakan 5,0 g zat, keringkan pada suhu 105° hingga perbedaan antara dua kali penimbangan berturut-turut dalam jangka waktu 1 jam tidak lebih dari 5,0 mg.

**Sisa pemijaran** <301> Dapat diabaikan; lakukan penetapan dengan menggunakan 2 g zat.

**Logam berat**<371>*Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Kandungan nitrogen** <581> Tidak kurang dari 9,5% dan tidak lebih dari 11,5%, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Ion iodium** Tidak lebih dari 6,6%, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

*Penetapan iodium total* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 100 ml air dalam labu Erlenmeyer 250 ml. Tambahkan *natrium bisulfat LP* hingga warna iodium hilang. Tambahkan 25,0 ml *perak nitrat 0,1 N LV* dan 10 ml *asam nitrat P*, campur. Titrasi kelebihan perak nitrat dengan *amonium tiosianat 0,1 N LV* menggunakan indikator *besi(III) amonium sulfat LP*. Lakukan penetapan blanko. *Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 12,69 mg I*. Dari persentase iodium total yang dihitung terhadap zat yang dikeringkan, dikurangi persentase iodium dari *Penetapan kadar* iodium diperoleh persentase ion iodium.

**Penetapan kadar iodium** Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam gelas piala 400 ml dan tambahkan 200 ml air. Tutup gelas piala dan aduk dengan pengaduk mekanik pada suhu ruang selama tidak lebih dari 1 jam untuk melarutkan. Segera titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV* dan tambahkan 3 ml *kanji LP*

pada waktu mendekati titik akhir. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N  
setara dengan 12,69 mg I

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat.

### LARUTAN TOPIKAL POVIDON IODUM Povidone Iodine Topical Solution

Larutan Topikal Povidon Iodum adalah larutan Povidon Iodum. Mengandung tidak kurang dari 85,0% dan tidak lebih dari 120,0 % Iodum dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung sedikit etanol.

#### Identifikasi

A. Tambahkan 1 ml larutan yang mengandung lebih kurang 0,05 % iodium ke dalam campuran 1 ml *kanji LP* dan 9 ml air; terjadi warna biru tua.

B. Masukkan 10 ml larutan ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml, hindari kontak dengan leher labu, tutup labu dengan kertas saring dan basahkan dengan 1 tetes *kanji LP*; tidak terjadi warna biru dalam waktu 60 detik.

pH <1071> Antara 1,5 dan 6,5.

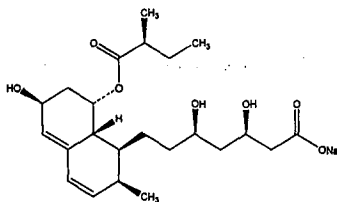
Kandungan etanol <1041> (Jika ada) Antara 90,0% dan 110,0 % dari jumlah yang tertera pada etiket.

Penetapan kadar Ukur saksama sejumlah volume setara dengan lebih kurang 50 mg iodium, masukkan dalam gelas piala 100 ml, tambahkan air hingga volume total tidak kurang dari 30 ml. Segera titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,02 N LV*, tentukan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan sistem elektrode platina-kalomel. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml natrium tiosulfat 0,02 N  
setara dengan 2,538 mg I

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat.

### PRAVASTATIN NATRIUM Pravastatin Sodium



Natrium (+)-( $\beta R$ ,  $\delta R$ ), 1S, 2S, 6S, 8S, 8aR)-1,2,6,7,8,8a-heksahidro- $\beta, \delta, 6, 8$ -tetrahidroksi-2-metil-1-naftalen heptanoat, 8-[(2S)-(2-metilbutirat)] [81131-70-6.]  
 $C_{23}H_{35}NaO_7$  BM 446,51

Pravastatin Natrium mengandung tidak kurang dari 97,5% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{23}H_{35}NaO_7$  dihitung terhadap zat anhidrat dan bebas pelarut.

Baku pembanding Pravastatin 1,1,3,3-Tetra-metilbutilamin BPF1, Pravastatin Natrium BPF1, Senyawa Sejenis A Pravastatin BPF1.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti Pravastatin natrium BPF1.

B. Menunjukkan reaksi Natrium seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

pH <1071> Antara 7,2 dan 9,0; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).

Air <1031> Metode I Tidak lebih dari 4,0%.

Logam berat <371> Metode III Tidak lebih dari 20 bpj.

Etanol Tidak lebih dari 3,0% (jika ada). Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Pipet 2 ml etanol mutlak P ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda, campur. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 1 ml ke dalam vial yang dilengkapi tutup septum dan penutup aluminium. Hitung jumlah etanol  $W_A$ , yang ditambahkan dalam g. Bobot jenis dari etanol mutlak P adalah 0,79 g per ml. Tambahkan 5 ml Larutan uji ke dalam vial yang sama, tutup rapat vial, campur. Panaskan vial pada suhu 80° selama 60 menit.

Larutan blangko Pipet 6 ml air ke dalam vial yang dilengkapi tutup septum dan penutup aluminium, tutup rapat vial. Panaskan vial pada suhu 80° selama 60 menit.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 0,2 g zat masukkan ke dalam labu tentukur 20-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam vial yang dilengkapi tutup septum penutup aluminium tambahkan 1 ml air, tutup rapat vial, dan campur. Panaskan vial pada suhu 80° selama 60 menit.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan 'head space' dan detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler leburan silika 30 m x 0,53 mm berisi bahan pengisi G43 dengan tebal lapisan 3  $\mu m$ . Gas pembawa adalah helium P, dengan perbandingan split 1:5 dan kecepatan linear aliran gas lebih kurang 35 cm per detik. Pertahankan suhu kolom pada 40° selama 20 menit, kemudian naikan 10° per menit sampai 240°, dan pertahankan 240° selama 20 menit. Pertahankan suhu 'transfer line' pada 85°, suhu injektor pada 140° dan detektor pada 250°. Lakukan kromatografi terhadap Larutan blangko, rekam kromatogram dan ukur respons

puncak seperti tertera pada *Prosedur*: tidak ada respons puncak.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 ml) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase (b/b) etanol dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{W_A}{W} \right) \left( \frac{V}{5} \right) \left( \frac{r_U}{r_S - r_U} \right)$$

$W_A$  adalah bobot dalam g etanol yang ditambahkan ke dalam *Larutan baku*;  $W$  adalah bobot dalam g pravastatin natrium yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*;  $V$  adalah volume dalam ml *Larutan uji*; 5 adalah volume dalam ml *Larutan uji* yang dipipet;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak etanol dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel*. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dipertahankan pada suhu 15° sampai waktu penyuntikan.]

*Pengencer* Campuran metanol P-air (1:1).

*Dapar pH 7,0* Buat larutan asam fosfat P 0,08 M, atur pH hingga 7,0 dengan penambahan trietilamin P, campur.

*Larutan A* Buat campuran air-Dapar pH 7,0-asetonitril P (52:30:18), saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Buat campuran asetonitril P-Dapar pH 7,0-air (60:30:10) saring dan awaudarakan.

*Fase gerak* Buat variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama Pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin BPF1, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 1,25 µg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah Pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin BPF1 dan *Senyawa sejenis A Pravastatin BPF1*, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,6 mg dan 0,001 mg per ml [Catatan *Senyawa sejenis A Pravastatin BPF1* adalah garam natrium dari asam 3α-hidroksiisokompaktin.]

*Larutan uji* Timbang saksama 50 mg zat, masukkan ke dalam labu terukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV 238 nm dan kolom 7,5 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 3,5 µm atau kolom 10 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-3,0	100	0	isokratik
3,0-26,5	100 → 0	0 → 100	gradien linear
26,5-26,6	0 → 100	100 → 0	gradien linear
26,6-30,0	100	0	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: Waktu retensi relatif pravastatin dan senyawa sejenis A pravastatin berturut-turut lebih kurang 1,0 dan 1,1; resolusi,  $R$ , antara puncak pravastatin dan senyawa sejenis A pravastatin tidak kurang dari 2,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{446,51}{553,78} \right) \left( \frac{V}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar pravastatin 1,2,3,3-tetrametilbutilamin dalam mg per ml *Larutan baku*; 446,51 dan 553,78 berturut-turut adalah bobot molekul pravastatin natrium dan pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin;  $V$  adalah volume dalam ml *Larutan uji*;  $W$  adalah bobot dalam mg pravastatin natrium untuk membuat *Larutan uji*;  $r_i$  adalah respon puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji* dan  $r_s$  adalah respon puncak pravastatin dari *Larutan baku*.

*Tabel*

Nama cemaran	Waktu retensi relatif	Batas (%)
3"-Hidroksipravastatin	0,33	0,2
6'-Epipravastatin	0,92	0,3
3 α-Hidroksiisokompaktin <sup>1</sup>	1,1	0,2
Cemaran Pentanoil <sup>2</sup>	1,2	0,2
Pravastatin laktone	1,8	0,2
Kompaktin	3,1	0,2
Cemaran lain	-	0,1
Total cemaran	-	0,6

<sup>1</sup>Natrium(3R,5R)-3,5-dihidroksi-7-[(1S,2S,3S,8S,8aR)-3-hidroksi-2-metil-8-[[[(2S)-2-metilbutanoil]oksi]-1,2,3,7,8,8a-heksahidronaftalen-1-il]heptanoat(senyawa sejenis A pravastatin)

<sup>2</sup>Asam(3R,5R)-3,5-dihidroksi-7-[(1S,2S,3S,8S,8aR)-3-hidroksi-2-metil-8-[[[(2S)-2-metilbutanoil]oksi]-1,2,3,7,8,8a-heksahidronaftalen-1-il]heptanoat

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan A* Buat larutan asam fosfat P 0,08 M, atur pH hingga 5,0 dengan penambahan larutan natrium hidroksida P 25%, saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Gunakan Asetonitril P, awaudarakan.

*Fase gerak* Buat variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Pravastatin 1,1,3,3-Tetrametilbutilamin BPF1*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P*, hingga kadar lebih kurang 0,25 mg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin BPF1* dan *Senyawa sejenis A Pravastatin BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,25 mg dan 0,001 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 10 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0 - 7,0	80 → 72	20 → 28	gradien linear
7,0 - 10,0	72 → 50	28 → 50	gradien linear
10,0 - 17,0	50	50	isokratik
17,0 - 17,1	50 → 80	50 → 20	gradien linear
17,1 - 20,0	80	20	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*. Waktu retensi relatif pravastatin dan senyawa sejenis A pravastatin berturut-turut lebih kurang 1,0 dan 1,2; resolusi, *R*, antara puncak pravastatin dan senyawa sejenis A pravastatin tidak kurang dari 1,2 dan simpangan baku relatif untuk respons puncak pravastatin pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, pravastatin natrium,  $C_{23}H_{35}NaO_7$  dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$VC \left( \frac{446,51}{553,78} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*V* adalah volume dalam ml *Larutan uji*; *C* adalah kadar Pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin dalam mg per ml *Larutan baku*; 446,51 dan 553,78 berturut-turut adalah bobot molekul pravastatin natrium dan pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak pravastatin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, simpan seperti petunjuk pada etiket. Jika didukung oleh

data pendukung stabilitas dapat disimpan di bawah nitrogen pada tempat dingin. Simpan pada suhu ruang.

## TABLET PRAVASTATIN NATRIUM Pravastatin Sodium Tablet

Tablet Pravastatin Natrium mengandung Pravastatin Natrium,  $C_{23}H_{35}NaO_7$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Pravastatin natrium BPF1, Senyawa sejenis B Pravastatin BPF1, Pravastatin 1,1,3,3-Tetrametilbutilamin BPF1.*

### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan Kadar*.

B. Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 10 mg pravastatin natrium dan ekstraksi dengan air. Ukur serapan ekstrak dengan kadar lebih kurang 10 µg per ml pada panjang gelombang antara 220 dan 340 nm. Spektrum serapan menunjukkan maksimum pada panjang gelombang yang sama dengan larutan *Pravastatin Natrium BPF1*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi* : 900 ml air

*Alat tipe 2* : 50 rpm

*Waktu* : 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{23}H_{35}NaO_7$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* dan larutan baku *Pravastatin 1,1,3,3-Tetrametilbutilamin BPF1* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm. [Catatan Untuk menyatakan kadar larutan baku sebagai pravastatin natrium, gunakan faktor konversi (446,51/553,78); 446,51 dan 553,78 adalah bobot molekul dari pravastatin natrium dan pravastatin 1,1,3,3-Tetra-metilbutilamin.]

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (*Q*)  $C_{23}H_{35}NaO_7$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan uji* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* [Catatan Gunakan larutan dalam waktu 24 jam setelah pembuatan.]

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak dengan waktu retensi 4 kali puncak pravastatin. Identifikasi semua cemaran yang tertera pada *Tabel* dan ukur respons

puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam tablet, dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dan  $r_s$  adalah jumlah seluruh respons puncak dari Larutan uji. Abaikan respons puncak pada waktu retensi relatif lebih kurang 0,7 dan 0,03; dan cemaran lebih kecil dari 0,05%.

Tabel

Nama	Waktu retensi relatif	Batas (%)
Cemaran oksidasi <sup>1</sup>	0,5	1
Pravastatin natrium	1,0	-
Cemaran spesifik lain 1	1,6	0,2
Cemaran spesifik lain 2	1,8	2
Pravastatin lakton	2,1	2
Cemaran spesifik lain 3	2,8	0,2
Cemaran spesifik lain 4	3,2	0,2
Cemaran spesifik lain 5	3,8	0,2
Cemaran tidak spesifik	-	0,2
Total cemaran	-	3

<sup>1</sup>Natrium(3R,5R)-3,5-dihidroksi-7-[(1S,2S)-6-hidroksi-2-metil-1,2-dihidronaftalen-1-il]heptanoat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931> [Catatan Larutan baku, Larutan uji persediaan, dan Larutan uji dapat disimpan pada suhu ruang selama 7 hari.]

**Fase gerak** Buat campuran metanol P-air-asam asetat glasial P-trietilamin P (500:500:1:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer 1** Timbang 16,4 g natrium asetat anhidrat P masukkan ke dalam labu tentukur 2000-ml. Tambahkan 1600 ml air, atur pH hingga 5,6 dengan penambahan asam asetat glasial P, encerkan dengan air sampai tanda, campur.

**Pengencer 2** Buat campuran dari Larutan 1- metanol P (80:20).

**Larutan Baku** Timbang saksama sejumlah Pravastatin 1,1,3,3-Tetrametilbutilamin BPFI masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dengan Pengencer 1, sonikasi, hingga kadar lebih kurang 0,6 mg per ml. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan Pengencer 2 sampai tanda.

**Larutan uji persediaan** Masukkan tidak kurang dari 5 tablet ke dalam labu tentukur yang sesuai dengan kapasitas (N L x 2)-ml, N adalah jumlah tablet yang dimasukkan, L jumlah dalam mg pravastatin natrium per tablet yang tertera pada etiket. Isi labu dengan Pengencer 1 hingga lebih kurang 80% volume labu. [Catatan Perlu mengisi 80% isi labu untuk mempertahankan pH selama pengerjaan.] Kocok selama 1 jam dan sonikasi selama tidak kurang dari 15 menit, kocok secara periodik labu dengan tangan hingga tablet hancur sempurna. Biarkan dingin dan encerkan dengan

Pengencer 1 sampai tanda. Sentrifus sebagian larutan pada 2000 rpm selama 15 menit atau saring.

**Larutan uji** Pipet 5 ml Larutan uji persediaan, dan encerkan dengan Pengencer 2 hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama lebih kurang 2 mg Senyawa Sejenis B Pravastatin BPFI, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml. Larutkan dan encerkan dengan metanol P sampai tanda. Pipet 0,1 ml larutan dan 1 ml Larutan baku ke dalam tabung kecil, campur. [Catatan Senyawa sejenis B pravastatin adalah 6'-epipravastatin natrium.]

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 'end capped' 5 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 atau kolom 'end capped' 7,5 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: Waktu retensi relatif untuk senyawa sejenis B pravastatin dan pravastatin berturut-turut lebih kurang 0,7 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak senyawa sejenis B pravastatin dan pravastatin tidak kurang dari 3,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak pravastatin. Hitung persentase, pravastatin natrium, C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>NaO<sub>7</sub> dari jumlah yang tertera pada etiket yang digunakan dengan rumus:

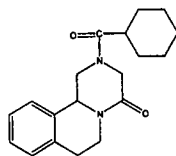
$$\left( \frac{446,51}{553,78} \right) \left( \frac{CVD}{NL} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) 100$$

446,51 dan 553,78 berturut-turut adalah bobot molekul pravastatin natrium dan pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin; C adalah kadar pravastatin 1,1,3,3-tetrametilbutilamin dalam mg per ml Larutan baku; V adalah volume dalam ml Larutan uji persediaan; D adalah faktor pengenceran dari Larutan uji; N adalah jumlah tablet yang digunakan untuk membuat Larutan uji persediaan; L adalah jumlah dalam mg pravastatin natrium per tablet, yang tertera pada etiket; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak pravastatin dari Larutan uji dan Larutan baku; 100 adalah faktor konversi persentase.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari kelembaban dan cahaya, pada suhu ruang terkendali.

## PRAZIKUANTEL

### Praziquantel



2-(Sikloheksilkarbonil)-1,2,3,6,7,11b-heksahidro  
4H-pirazino-[2,1-a]isokuinolin-4-on [55268-74-1]  
C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> BM 312,41

Praziquantel mengandung tidak kurang dari 98,5 % dan tidak lebih dari 101,0 % C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih atau praktis putih; tidak berbau atau bau khas lemah.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam etanol dan dalam kloroform

**Baku pembanding Praziquantel BPFi**; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg di atas fosfor pentoksida P pada suhu 50° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Senyawa sejenis A Praziquantel BPFi*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg di atas fosfor pentoksida P pada suhu 50° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Senyawa sejenis B Praziquantel BPFi*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg di atas fosfor pentoksida P pada suhu 50° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Senyawa sejenis C Praziquantel BPFi*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg di atas fosfor pentoksida P pada suhu 50° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti Praziquantel BPFi.

**Jarak lebur** <1021> Antara 136° dan 142°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg di atas fosfor pentoksida P pada suhu 50° selama 2 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 20 bpj.

**Senyawa sejenis** Masing-masing tidak lebih dari 0,2%; lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak dan Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

**Larutan baku** Timbang saksama masing-masing sejumlah *Senyawa sejenis A Praziquantel BPFi*, *Senyawa sejenis B Praziquantel BPFi* dan *Senyawa sejenis C Praziquantel BPFi* larutkan dengan **Fase gerak** hingga diperoleh larutan tunggal dengan kadar masing-masing lebih kurang 0,04 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dalam **Fase gerak**, encerkan sampai tanda.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) **Larutan baku** dan **Larutan uji** ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, dan ukur respons puncak yang dihasilkan. Waktu retensi relatif lebih kurang 0,8 untuk *senyawa sejenis A Praziquantel BPFi*; 1,0 untuk praziquantel; 1,8 untuk *senyawa sejenis B Prazikantel BPFi*; 2,1 untuk *Senyawa sejenis C Prazikantel BPFi*. Hitung jumlah dalam persentase 2-benzoil-1,2,3,6,7,11b-heksahidro 4H-pirazino[2,1-a]isokuinolin-4-on (*Senyawa sejenis A Praziquantel*), 2-(sikloheksilkarbonil)-2,3,6,7-tetrahidro-4H-pirazino [2,1-a]isokuinolin-4-on (*Senyawa Sejenis B Praziquantel*), dan 2-(N-formilheksahidrohipuroil)-1,2,3,4-tetrahidro kuinolin-1-on (*Senyawa Sejenis C Praziquantel*) dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar *Baku pembanding (A,B,C)* dalam mg per ml *Larutan baku*; W adalah bobot praziquantel dalam mg *Larutan uji*; r<sub>u</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respons puncak yang dihasilkan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Fosfat** Tidak lebih dari 0,05%.

**Larutan tembaga(II) sulfat** Larutkan 250 mg tembaga(II) sulfat P dan 4,5 g amonium asetat P dalam asam asetat 2 N hingga 100 ml.

**Larutan asam 4-amino-3-hidroksi-1-naftalen sulfonat** Gerus halus di dalam lumpang 5 g natrium sulfat P; 94,3 g natrium metabisulfat P dan 700 mg asam 4-amino-3-hidroksi-1-naftalensulfonat P. Larutkan 1,5 g campuran ini dalam 10 ml air, jika perlu panaskan perlahan-lahan. Larutan ini dibuat segar.

**Larutan baku** Timbang saksama 143,3 mg kalium fosfat monobasa P yang telah dikeringkan, larutkan dalam air hingga 1000 ml. Pipet 5 ml larutan ini, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung fosfat (PO<sub>4</sub>) setara dengan 5 µg per ml.

**Larutan uji** Tambahkan 30 ml air ke dalam 500 mg zat uji, panaskan hingga mendidih. Biarkan dingin, saring dan kumpulkan filtrat ke dalam labu tentukur 50-ml. Bilas penyaring dengan air, kumpulkan cairan bilasan ke dalam labu, encerkan dengan air sampai tanda.



**Prosedur** Tambahkan ke dalam 10 ml *Larutan uji* dan 10 ml *Larutan baku* masing-masing 5 ml *Larutan tembaga(II) sulfat*, 2 ml larutan *amonium molibdat P* (3 dalam 100), 1 ml *Larutan asam 4-amino-3-hidroksi-1-naftalensulfonat* dan 1 ml larutan *asam perklorat P* (3 dalam 100), campur, biarkan selama 15 menit: warna biru *Larutan uji* tidak lebih tua dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran *asetonitril P-air* (60:40), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Prazikuantel BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak*, encerkan secara bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,18 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 36 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 20-ml, larutkan dalam *Fase gerak*, encerkan sampai tanda. Pipet 5,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan untuk puncak prazikuantel tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyutikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{19}H_{24}N_2O_2$ , dengan rumus:

$$200 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Prazikuantel BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### TABLET PRAZIKUANTEL Prazikuantel Tablet

Tablet Prazikuantel mengandung Prazikuantel,  $C_{19}H_{24}N_2O_2$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Prazikuantel BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 50° pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg di atas *fosfor pentoksida P* selama 2 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <281>*. Harga  $R_f$  pita utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

**Larutan uji** Masukkan sejumlah serbuk tablet, setara dengan lebih kurang 30 mg prazikuantel, ke dalam tabung sentrifus, tambahkan 5 ml *metanol P*, aduk selama 5 menit, dan sentrifus, gunakan beningan.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Prazikuantel BPFi* dalam *metanol P* hingga kadar 6 mg per ml.

**Prosedur** Totalkan secara terpisah, bentuk pita lebar 1 cm, masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada jarak yang sama 2,5 cm dari tepi bawah lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang tidak dijenuhkan dengan fase gerak *etil asetat P* hingga merambat lebih kurang 8 cm. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm.

### Disolusi <1231>

**Media disolusi:** 900 ml *asam hidroklorida 0,1 N* mengandung 2,0 mg *natrium lauril sulfat P* per ml.

**Alat tipe 2:** 50 rpm.

**Waktu:** 60 menit.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Prazikuantel BPFi*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 1/90 mg per ml, *L* adalah jumlah prazikuantel dalam mg dalam tablet yang tertera pada etiket. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml; encerkan dengan *Media Disolusi* sampai tanda.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah  $C_{19}H_{24}N_2O_2$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 263 nm.

**Toleransi** Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 75 % (Q)  $C_{19}H_{24}N_2O_2$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak dan Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar Prazikuantel*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Prazikuantel BPFi* larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,18 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 150 mg prazikuantel, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 70 ml *Fase*

gerak, sonikasi selama 5 menit, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda, campur dan saring. Masukkan 3,0 ml filtrat ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Prosedur Lakukan seperti tertera pada Prosedur dalam Penetapan kadar Prazikuantel. Hitung jumlah dalam mg  $C_{19}H_{24}N_2O_2$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

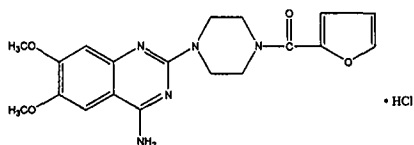
$$2500 \left( \frac{C}{3} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Prazikuantel BPFI dalam mg per ml Larutan baku;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat.

## PRAZOSIN HIDROKLORIDA

### Prazosin Hydrochloride



1-(4-Amino-6,7-dimetoksi-2-kuinazolinil)-4-(2-furoil)piperazina monohidroklorida [19237-84-4]  
 $C_{19}H_{21}N_5O_4 \cdot HCl$  BM 419,86

Prazosin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{19}H_{21}N_5O_4 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat anhidrat. [Perhatian Hati-hati jangan terhirup partikel prazosin hidroklorida dan hindari kontak langsung dengan bagian tubuh.]

Pemerian Serbuk; putih sampai cokelat muda.

Kelarutan Sangat sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol 96 % dan dalam metanol; praktis tidak larut dalam aseton dan dalam kloroform

Baku pembanding Prazosin Hidroklorida BPFI.

#### Identifikasi

A. Larutkan 20 mg zat dalam 20 ml metanol P, uapkan hingga kering dengan bantuan sedikit pemanasan. Keringkan residu dalam hampa udara pada suhu 130° selama 3 jam. Spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Prazosin Hidroklorida BPFI.

B. Serapan jenis ultraviolet larutan zat 7 µg per ml dalam asam klorida-metanol 0,01 N pada panjang gelombang 246 nm dan 329 nm, dihitung terhadap zat anhidrat, tidak berbeda lebih dari 4,0%.

C. Buat larutan uji dalam campuran kloroform P-metanol P-dietilamin P (10:10:1) dengan kadar 5 mg per ml, dan lakukan penetapan seperti tertera pada Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis <281>, menggunakan fase gerak yang terdiri dari campuran etil asetat P-dietilamin P (19:1).

D. Larutan menunjukkan reaksi Klorida seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

Logam berat <371>Metode II Tidak lebih dari 50 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan sisa yang diperoleh pada penetapan sisa pemijaran dalam asam nitrat 2 N secukupnya hingga 50 ml. Gunakan Larutan baku timbal 1 bpj sebagai larutan baku.

Besi Tidak lebih dari 100 bpj

Larutan baku Gunakan larutan besi ASp seperti tertera pada Spektrofotometri Atom: Emisi dan Serapan dalam Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 1,0 g zat, tambahkan perlahan-lahan lebih kurang 35 tetes asam nitrat P. Setelah asap habis, pijarkan perlahan-lahan dengan menaikkan suhu dari 150° sampai 1000°, pertahankan suhu akhir selama 1 jam. Dinginkan, larutkan sisa dalam 20 ml asam nitrat 2 N, uapkan hingga lebih kurang 5 ml, encerkan dengan asam nitrat 0,2 N hingga 25 ml.

Prosedur Ukur serapan Larutan uji dan Larutan baku pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 248 nm menggunakan spektrofotometer serapan atom; serapan Larutan uji tidak lebih besar dari Larutan baku. Pisahkan lebih kurang 10 ml larutan untuk uji Nikel.

Nikel Tidak lebih dari 100 bpj.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 100 mg nikel, larutkan dalam 10 ml asam nitrat P dengan bantuan pendidihan. Dinginkan, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan asam nitrat 0,2 N hingga kadar lebih kurang 4,0 µg per ml.

Larutan uji Gunakan Larutan uji yang tertera pada penetapan Besi.

Prosedur Ukur serapan Larutan uji dan Larutan baku pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 232 nm menggunakan spektrofotometer serapan atom seperti tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191> yang dilengkapi dengan lampu "Hollow" katoda Nikel dan nyala udara-asetilen P: serapan Larutan uji tidak lebih besar dari Larutan baku.

Cemaran umum <481>

Fase gerak Buat campuran etil asetat P-dietilamin P (19:1).

Penampak bercak Gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

Larutan baku Buat larutan baku dalam campuran kloroform P-metanol P-dietilamin P (10:10:1).

Larutan uji Buat larutan zat dalam campuran kloroform P-metanol P-dietilamin P (10:10:1).

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,4%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 2,0% untuk zat anhidrat; antara 8,0% dan 15,0% untuk zat polihidrat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *metanol P-air-asam asetat glasial P* (700:300:10). Tambahkan sejumlah *dietilamin P* (lebih kurang 0,2 ml) hingga diperoleh waktu retensi prazosin hidroklorida antara 6 dan 10 menit. Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Buat campuran *metanol P-air* (7:3).

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 100 mg *Prazosin Hidroklorida BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet sejumlah volume larutan dan encerkan dengan *Pengencer* secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 30 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 3 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L3*. Laju alir diatur hingga waktu retensi antara 6 dan 10 menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg prazosin hidroklorida,  $C_{19}H_{21}N_5O_4 \cdot HCl$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{C}{0,3}\right)\left(\frac{r_u}{r_s}\right)$$

*C* adalah kadar *Prazosin Hidroklorida BPFI* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

**Penandaan** Pada etiket harus dicantumkan bentuk anhidrat atau polihidrat.

## TABLET PRAZOSIN HIDROKLORIDA Prazosin Hydrochloride Tablet

Tablet Prazosin Hidroklorida mengandung Prazosin Hidroklorida, setara dengan Prazosin  $C_{19}H_{21}N_5O_4$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi Spektrum** serapan inframerah residu yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Prazosin BPFI*. Residu diperoleh dengan cara: Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan 10 mg prazosin, kocok dengan campuran 10 ml *diklorometan P* dan 10 ml *kalium hidroksida 0,05 N*, saring lapisan organik melalui kapas, uapkan hingga kering dan lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 15 mmHg pada suhu 60° selama 2 jam.

**Keseragaman kandungan** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pelarut* Campuran *metanol P-asam asetat glasial P-air* (96:2:2).

*Fase gerak* Buat larutan *dietilamin P* 0,01% dalam *Pelarut*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Prazosin Hidroklorida BPFI*, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga kadar 0,00220%.

*Larutan uji* Kocok satu tablet selama 1 jam dalam sejumlah *Pelarut* hingga kadar prazosin 0,002%, sentrifus dan gunakan beningan.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom baja tahan karat 20 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L3*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah sama *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Hitung jumlah dalam mg kandungan,  $C_{19}H_{21}N_5O_4$ , menggunakan jumlah kandungan,  $C_{19}H_{21}N_5O_4$ , dalam *Prazosin Hidroklorida BPFI* yang digunakan.

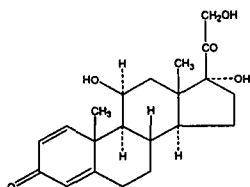
**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Larutan baku*, *Sistem kromatografi* dan *Prosedur* Lakukan seperti tertera pada penetapan *Keseragaman kandungan*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 2 mg prazosin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan campuran *metanol P-asam asetat glasial P-air* (96:2:2) sampai tanda, kocok selama 30 menit, sentrifus dan gunakan beningan.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

## PREDNISOLON Prednisolone



11 $\beta$ , 17,21-Trihidroksipregna-1,4-diena-3,20-dion [50-24-8]  
C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> BM 360,45  
Sesquihidrat [ 52438-85-4] BM 387,48

Prednisolon berbentuk anhidrat atau mengandung satu setengah moleku air hidrat. Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai praktis putih; tidak berbau. Melebur pada suhu 235° disertai penguraian.

**Kelarutan** Larut dalam metanol dan dalam dioksan; agak sukar larut dalam aseton dan dalam etanol; sukar larut dalam kloroform. sangat sukar larut dalam air;

**Baku pembanding** *Prednisolon BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Prednisolon BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan dengan kadar lebih kurang 10 µg per ml dalam metanol P menunjukkan maksimum dan minimum, pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Prednisolon BPFi*; serapan jenis masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 242 nm, berbeda tidak lebih dari 2,5%.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +97° dan +103°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam dioksan P mengandung 10 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0% untuk prednisolon anhidrat dan tidak lebih dari 7,0% untuk prednisolon hidrat; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Dapat diabaikan; lakukan penetapan menggunakan 100 mg zat.

**Selenium** <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg zat.

### Cemaran umum<481>

*Larutan uji* Gunakan pelarut campuran etanol P-air (1:1).

*Larutan baku* Gunakan pelarut campuran etanol P-air (1:1).

*Fase gerak* Buat campuran toluen P-2-propanol P (70:30) dalam bejana yang tidak dijenuhkan.

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Buat campuran butil klorida P-larutan butil klorida P jenuh air-tetrahidrofur P-metanol P-asam asetat glasial P (95:95:14:7:6).

*Larutan baku internal* Timbang saksama sejumlah betametason, larutkan dalam tetrahidrofur P hingga diperoleh kadar lebih kurang 5 mg per ml. Encerkan larutan dengan kloroform P jenuh air hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Prednisolon BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan kloroform P jenuh air sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan kloroform P jenuh air sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L3. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terdapat *Larutan baku* dengan 4 kali penyuntikan. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara prednisolon dan betametason tidak kurang dari 3,5 dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respon puncak utama. Waktu retensi betametason dan prednisolon berturut-turut adalah lebih kurang 17 menit dan 23 menit. Hitung jumlah dalam mg prednisolon, C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>, dengan rumus:

$$0,1 C \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

C adalah kadar *prednisolon BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; R<sub>U</sub> dan R<sub>S</sub> berturut-turut adalah perbandingan respons puncak prednisolon dan puncak baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## KRIM PREDNISOLON Prednisolone Cream

Krim Prednisolon mengandung Prednisolon,  $C_{21}H_{28}O_5$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket dalam dasar krim yang tepat.

**Baku Pembanding Prednisolon BPF1;** lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu  $105^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Uapkan hingga kering lebih kurang 5 ml *Larutan uji* yang diperoleh dari *Penetapan kadar*. Tambahkan 2 - 3 ml *asam perklorat P* hangat, hangatkan di atas tangas uap selama lebih kurang 2 menit: terjadi warna merah darah. Tambahkan 5 ml air: warna tidak berubah.

**Isi minimum <861>** Memenuhi syarat.

### Penetapan kadar

*Pereaksi asam sulfat* Buat campuran *asam sulfat P-etanol mutlak P*-air (4:3:3).

*Modifikasi fenilhidrazin-asam sulfat LP* Larutkan 65 mg *fenilhidrazin hidroklorida P* dalam 100 ml *Pereaksi asam sulfat*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Prednisolon BPF1*, larutkan dalam *etanol mutlak P*, encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *etanol mutlak P* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah krim setara dengan lebih kurang 20 mg prednisolon, tambahkan 25 ml *etanol mutlak P*. Hangatkan di atas tangas uap untuk mendispersikan zat, dinginkan hingga membeku. Saring ke dalam labu tentukur 200-ml melalui kertas saring yang sebelumnya telah dicuci dengan *etanol mutlak P*. Ulangi dua kali mulai dari "tambahkan 25 ml *etanol mutlak P*". Encerkan dengan *etanol mutlak P* sampai tanda. (Ambil lebih kurang 5 ml larutan ini untuk uji *Identifikasi*).

*Prosedur* Pipet 2 ml *Larutan uji* ke dalam masing-masing dua labu Erlenmeyer 50 ml (sebagai *Larutan uji* dan *Blangko larutan uji*). Pipet 2 ml *Larutan baku* ke dalam masing-masing dua labu Erlenmeyer 50 ml (sebagai *Larutan baku* dan *Blangko larutan baku*). Pipet 2 ml *etanol mutlak P* ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml (sebagai *Blangko pereaksi*) tambahkan 20,0 ml *Pereaksi asam sulfat* ke dalam *Blangko larutan uji* dan *Blangko larutan baku*. Tambahkan 20,0 ml *Modifikasi fenilhidrazin-asam sulfat LP* berturut-turut ke dalam *Larutan uji*, *Larutan baku* dan *Blangko pereaksi*. Panaskan semua labu dalam tangas air pada suhu  $60^\circ$  selama lebih kurang 45 menit, kemudian dinginkan dalam tangas es. Saring masing-masing melalui penyaring kaca masir yang berpori halus. Ukur serapan masing-masing filtrat pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 410 nm, dengan *etanol mutlak P* sebagai *blangko*.

Hitung jumlah dalam mg,  $C_{21}H_{28}O_5$ , dalam krim dengan rumus :

$$200 C \left( \frac{A_U - A_{UB} - A_R}{A_S - A_{SB} - A_R} \right)$$

*C* adalah kadar *Prednisolon BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*;  $A_{UB}$  dan  $A_{SB}$  berturut-turut adalah serapan *Blangko larutan uji* dan *Blangko larutan baku*;  $A_R$  adalah serapan *Blangko pereaksi*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tube atau dalam wadah tertutup rapat.

## TABLET PREDNISOLON Prednisolone Tablet

Tablet Prednisolon mengandung Prednisolon,  $C_{21}H_{28}O_5$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Prednisolon BPF1;** lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu  $105^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi** Timbang sejumlah serbuk tablet yang setara dengan lebih kurang 50 mg prednisolon, dan kocok dengan 25 ml *kloroform P* selama 15 menit. Saring dan uapkan filtrat di atas tangas uap hingga kering. Cuci residu dua kali, tiap kali dengan 10 ml *heksan P* panas, buang setiap beningan. Kocok residu dengan 25 ml *etanol dehidrat P*, hangatkan selama 15 menit. Saring larutan hangat, uapkan filtrat hingga volume 2 - 3 ml. Tambahkan *heksan P* sampai larutan menjadi keruh, dinginkan hingga terjadi hablur, kumpulkan hablur dan keringkan pada  $60^\circ$  selama 1 jam; hablur yang diperoleh menunjukkan reaksi *Identifikasi cara A* pada *Prednisolon*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi* :900 ml air.

*Alat tipe 2* : 50 rpm.

*Waktu* :30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{21}H_{28}O_5$  yang terlarut, dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan larutan baku *Prednisolon BPF1* yang diketahui kadarnya pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 246 nm. Jumlah *etanol P* yang digunakan tidak lebih dari 5% volume total untuk melarutkan baku pembanding sebelum diencerkan dengan air.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q)  $C_{21}H_{28}O_5$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat. *Prosedur keseragaman kandungan* Lakukan penetapan

dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Prednisolon*.

*Larutan uji* Masukkan 1 tablet dalam wadah yang sesuai, tambahkan 0,5 ml air di atas tablet, dan biarkan hingga hancur (lebih kurang 30 menit). Kocok perlahan hingga tablet hancur sempurna. Tambahkan 2,0 ml *Larutan baku internal* untuk tiap mg kadar tablet yang tertera pada etiket dan sonikasi selama 10 menit. Encerkan dengan sejumlah *kloroform P* jenuh air, lebih kurang empat kali volume *Larutan baku internal* yang ditambahkan. Tambahkan beberapa butiran kaca, tutup wadah dan kocok kuat selama lebih kurang 30 menit. Sentrifus atau biarkan hingga diperoleh larutan jernih.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* yang tertera pada *Penetapan kadar dalam Prednisolon*. Hitung jumlah dalam mg, prednisolon,  $C_{21}H_{28}O_5$ , dalam zat uji dengan rumus:

$$(F \ W_s) \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*F* adalah perbandingan volume *Larutan baku internal* dalam *Larutan uji* terhadap volume *Larutan baku internal* dalam *Larutan baku* dalam ml; *Ws* adalah bobot *Prednisolon BPFi* dalam mg, yang digunakan sebagai *Larutan baku*; *R<sub>u</sub>* dan *R<sub>s</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak prednisolon dan baku internal *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku internal dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Prednisolon*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 10 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet yang setara dengan lebih kurang 10 mg prednisolon, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal* dan sonikasi selama 10 menit. Encerkan dengan *kloroform P* jenuh air sampai tanda, dan kocok selama 30 menit. Sentrifus campuran ini dan gunakan beningan.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Prednisolon*. Hitung jumlah dalam mg, prednisolon ( $C_{21}H_{28}O_5$ ) dalam zat uji dengan rumus:

$$0,1 \ C \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Prednisolon BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>u</sub>* dan *R<sub>s</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak prednisolon dan baku internal *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PREDNISOLON ASETAT Prednisolone Acetate

*11 $\beta$ ,17,21-Trihidroksipregna-1,4-diena-3,20-dion 21-asetat* [52-21-1]

$C_{23}H_{30}O_6$

BM 402,49

Prednisolon Asetat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{23}H_{30}O_6$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau praktis putih; tidak berbau. Melebur pada suhu 235° disertai peruraian.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; sukar larut dalam aseton, dalam etanol dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Prednisolon asetat BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Prednisolon Asetat BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 100.000) dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Prednisolon Asetat BPFi*; serapan jenis masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 242 nm, berbeda tidak lebih dari 2,5%.

C. Pada lebih kurang 50 mg zat dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml *etanol P* dan 2 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 3,5), dididihkan hati-hati selama lebih kurang 1 menit: terjadi etil asetat yang berbau khas.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +112° dan +119°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *dioksan P* mengandung 100 mg per 10 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran *n-butyl klorida P-n-butyl klorida P* jenuh air-*tetrahidrofuran P-metanol P-asam asetat glasial P* (95:95:14:7:6).

*Larutan baku internal* Timbang saksama betametason larutkan dalam *tetrahidrofuran P* hingga kadar lebih

kurang 10 mg per ml. Encerkan larutan dengan kloroform P jenuh air, hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 5 mg Prednisolon Asetat BPFI, masukkan dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan 10,0 ml Larutan baku internal, bila perlu lakukan sonikasi. Encerkan dengan kloroform P jenuh air sampai tanda, hingga kadar lebih kurang 25 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 5 mg zat masukkan dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan 10,0 ml Larutan baku internal, bila perlu lakukan sonikasi. Encerkan dengan kloroform P jenuh air sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatografi cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L3. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara puncak analit dan puncak baku internal tidak kurang dari 3,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif betametason dan prednisolon asetat masing-masing adalah lebih kurang 1,6 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>, dengan rumus:

$$0,2C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar Prednisolon Asetat BPFI dalam µg per ml Larutan baku; R<sub>U</sub> dan R<sub>S</sub> berturut-turut adalah perbandingan respons puncak antara prednisolon asetat dan baku internal dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TETES MATA SUSPENSII PREDNISOLON ASETAT

### Prednisolon Acetate Ophthalmic Suspension

Tetes Mata Suspensi Prednisolon adalah suspensi steril Prednisolon Asetat dalam air mengandung pengawet antimikroba yang sesuai. Boleh mengandung dapar, stabilisator, bahan pensuspensi dan bahan pengental yang sesuai. Mengandung prednisolon asetat, C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Prednisolon asetat BPFI; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>.

**Fase gerak** Buat campuran Kloroform P-aseton P (4:1).

**Larutan Baku** Timbang sejumlah Prednisolon Asetat BPFI, larutkan dan encerkan dengan kloroform P hingga kadar lebih kurang 1,5 mg per ml.

**Larutan uji** Pindahkan sejumlah volume suspensi setara dengan 7,5 mg prednisolon asetat, masukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 5 ml kloroform P dan kocok, sentrifus.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 20 µl Larutan baku dan Larutan uji pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi Fase gerak dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat dari tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan sampai fase gerak menguap, amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Harga R<sub>f</sub> bercak utama Larutan uji sesuai dengan Larutan baku.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**pH** < 1071> Antara 5,0 dan 6,0.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran asetoniril P-air (2:3), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Prednisolon asetat BPFI, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan campuran larutan asetoniril P-air (1:1) hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah prednisolon larutkan dengan campuran larutan asetoniril P-metanol P (1:1) hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,1 mg per ml. Campur sejumlah volume sama larutan ini dengan Larutan baku.

**Larutan uji** Ukur saksama sejumlah volume suspensi tetes mata setara dengan 5 mg prednisolon asetat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan larutan campuran asetoniril P-air (1:1) sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku dan Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 7000 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,0; resolusi, R, antara prednisolon dan prednisolon asetat tidak kurang dari 2,0; waktu retensi relatif prednisolon dan prednisolon asetat masing-masing adalah 0,5 dan 1,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama ( lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>, per ml suspensi tetes mata dengan rumus:

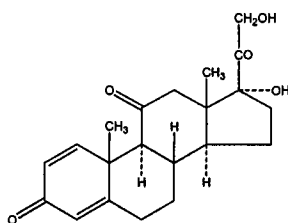
$$50 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Prednisolon Asetat BPFi* dalam mg per ml dalam *Larutan baku*; *V* adalah volume suspensi tetes mata dalam ml; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PREDNISON

### Prednisone



17,21-Dihidroksipregna-1,4-diena-3,11,20-trion

[53-03-2]

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>

BM 358,43

Prednisone mengandung satu molekul air hidrat atau anhidrat, mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih atau praktis putih, tidak berbau; melebur pada suhu 230° disertai penguraian.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam dioksan dan dalam metanol.

**Baku pembanding** *Prednisone BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 30 menit dan didispersikan dalam kalium bromida *P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Prednisone BPFi*. Apabila terjadi perbedaan, larutan zat uji dan baku pembanding masing-masing dalam metanol *P*, uapkan larutan tersebut sampai kering dan ulangi pengujian menggunakan sisa penguapan.

B. Larutkan lebih kurang 6 mg zat dalam 2 ml asam sulfat *P*, biarkan selama 5 menit: terjadi warna jingga.

Tuangkan larutan ke dalam 10 ml air: terjadi perubahan warna mula-mula kuning kemudian perlahan-lahan menjadi hijau kebiruan.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +167° dan +175°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam dioksan *P* mengandung 50 mg per 10 ml.

**Sisa pemijaran** <301> Dapat diabaikan; lakukan penetapan menggunakan 100 mg zat.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 5,0% untuk prednisone monohidrat dan tidak lebih dari 1,0% untuk prednisone anhidrat.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 1,5% dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak** Buat campuran kloroform *P*-metanol *P* (98:2), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 20-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 4,0 cm x 6,0 mm berisi bahan pengisi *L3*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan uji*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 2500 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 5 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dan *r<sub>S</sub>* adalah jumlah semua respon puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak**, Buat campuran air-tetrahidrofuran *P* bebas peroksida-metanol *P* (688:250: 62), saring.

**Pelarut** Larutan metanol *P* (1 dalam 2).

**Larutan baku internal** Timbang saksama sejumlah asetanilida, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 110 µg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Prednisone BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang



0,2 mg per ml. Pipet 5 ml larutan ini dan 5 ml *Larutan baku internal* ke dalam gelas tentukur 50-ml. Tambahkan *Pelarut* sampai tanda, hingga kadar *Prednison BPF1* lebih kurang 20 µg per ml. Larutan dibuat segar.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, lakukan seperti pada *Larutan baku*, mulai dari "larutkan dalam *Pelarut*".

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi prednison dan asetanilida berturut-turut adalah lebih kurang 8 menit dan 6 menit, resolusi, *R*, antara puncak prednison dan baku internal tidak kurang dari 3; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%. Atur parameter percobaan sehingga puncak yang diperoleh dari *Larutan baku* lebih kurang setengah skala penuh.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak pada waktu retensi yang setara. Hitung jumlah dalam mg prednison,  $C_{21}H_{26}O_5$ , dengan rumus:

$$2,5C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Prednison BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak prednison dan baku internal *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**Penandaan** Pada etiket dicantumkan hidrat atau anhidrat.

## TABLET PREDNISON

### Prednison Tablet

Tablet prednison mengandung Prednison,  $C_{21}H_{26}O_5$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Prednison BPF1*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Masukkan sejumlah serbuk tablet yang setara dengan lebih kurang 10 mg prednison ke dalam gelas kimia 50 ml, tambahkan 10 ml air, campur hingga terbentuk masa bubur, masukkan ke dalam kolom 13 cm x 3 cm berisi tanah diatome dan biarkan selama 10 menit. Eluasi kolom dengan 60 ml *eter P* yang telah dicuci dengan air, uapkan eluat di atas tangas uap hingga kering. Cuci residu tiga kali, tiap kali dengan 20 ml *n-heptan P*, saring. Keringkan residu pada suhu 105° selama

30 menit; hablur yang diperoleh memberikan reaksi *Identifikasi A* dan *B* seperti tertera pada *Prednison*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*:Gunakan 500 ml air untuk tablet mengandung 10 mg atau kurang; dan 900 ml air untuk tablet yang mengandung lebih dari 10 mg prednison.

*Alat tipe 2*: 50 rpm

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{21}H_{26}O_5$  yang terlarut, dengan mengukur serapan alikuot, yang telah disaring dan jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi*, bandingkan dengan serapan larutan baku *Prednison BPF1* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 242 nm. Untuk melarutkan prednison sebelum diencerkan dengan air boleh digunakan etanol tidak lebih dari 5% dari volume total larutan baku.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) *Prednison*,  $C_{21}H_{26}O_5$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

*Prosedur keseragaman kandungan*

*Fase gerak*, *Larutan baku internal*, *Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Prednison*.

*Larutan uji* Masukkan 1 tablet ke dalam labu tentukur dengan volume tertentu yang jika isinya diencerkan sampai tanda, memberikan kadar prednison lebih kurang 0,2 mg per ml. Tambahkan 5 ml air, goyang, sonikasi selama 1 menit, tambahkan *metanol P* hingga setengah volume labu tentukur dan sonikasi selama 1 menit. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, tambahkan larutan *metanol P* (1 dalam 2) sampai tanda. Saring melalui penyaring dengan porositas 5 µm, buang 20 ml filtrat pertama.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* pada *Penetapan kadar* dalam *Prednison*. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{21}H_{26}O_5$ , dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$DC \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*D* adalah pengenceran *Larutan uji*; *C* adalah kadar *Prednison BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak prednison dan baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

### Penetapan kadar

*Fase gerak*, *Larutan baku internal*, *Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Prednison*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 20 mg prednison, masukkan ke

dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 5 ml air, dan sonikasi selama 1 menit, tambahkan 50 ml *metanol P* dan sonikasi selama 1 menit. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini dan 5 ml *Larutan baku internal*, ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan larutan *metanol P* (1 dalam 2) sampai tanda. Saring melalui penyaring dengan porositas 5 µm, buang 20 ml filtrat pertama.

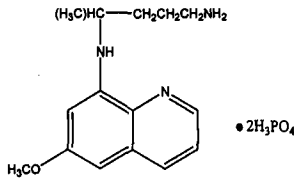
*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* pada *Penetapan kadar* dalam *Prednison*. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{21}H_{26}O_5$ , dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$D \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Prednison BPHI* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak prednison dan baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PRIMAKUIN FOSFAT Primaquine Phosphate



8-[(4-Amino-1-metilbutil)amino]-6-metoksikuinolina fosfat(1:2) [63-45-6]  
 $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$  BM 455,34

Primaquin Fosfat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; merah jingga; tidak berbau; rasa pahit.

**Kelarutan** Larut dalam air; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Primaquin Fosfat BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Primaquin Fosfat BPHI*.

B. Sisa pemijaran menunjukkan reaksi pirofosfat seperti tertera pada *fosfat* dalam *Uji Identifikasi Umum* <291>.

C. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* pada *Penetapan kadar*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode I* Memenuhi syarat. Lakukan penetapan menggunakan *Larutan uji* dengan kadar 20 mg per ml dan *Larutan baku* dengan kadar dua kali *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 700 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala dan larutkan dalam lebih kurang 75 ml air. Tambahkan 10 ml *asam klorida P*. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Titrasi Nitrimetri* dalam *Titrasi* <711>, mulai dari “dinginkan hingga suhu lebih kurang 15°”

*Tiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 45,53 mg  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## TABLET PRIMAKUIN FOSFAT Primaquine Phosphate Tablet

Tablet Primaquin Fosfat mengandung Primaquin Fosfat,  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ , tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Primaquin Fosfat BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 25 mg primaquin fosfat, rendam dengan 10 ml air selama 15 menit, dan saring

A. Encerkan 0,1 ml filtrat dengan 1 ml air, tambahkan 1 tetes *emas(III) klorida LP*; segera terjadi warna biru lembayung.

B. Pada sisa filtrat tambahkan 5 ml *trinitrofenol LP*; terbentuk endapan kuning. Cuci endapan dengan air dingin, keringkan pada suhu 105° selama 2 jam; jarak lebur pikrat antara 208° dan 215° [*Perhatian Pikrat dapat meledak.*]

### Disolusi <1231>

*Media disolusi:* 900 ml *asam klorida 0,01 N*.

*Alat tipe2:* 50 rpm.

*Waktu:* 60 menit

Tentukan jumlah  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$  yang terlarut dengan cara sebagai berikut:

*Larutan natrium 1-pentansulfonat* Larutkan lebih kurang 961 mg *natrium-1-pentansulfonat P* dan 1 ml asam asetat glasial *P* ke dalam 400 ml air.

*Fase gerak* Buat campuran *metanol P-Larutan natrium-1-pentansulfonat* (60:40), saring dan awaudarakan, jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan uji* Gunakan larutan hasil disolusi.

*Larutan baku Larutan Primakuin Fosfat BPFi* dalam media yang sama dengan larutan uji.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dengan penyuntikan ulang dan rekam kromatogram dan rekam respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: simpangan baku relatif* tidak lebih dari 3,0 %.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku Primakuin Fosfat BPFi* yang diketahui kadarnya. Ukur respons puncak utama dan hitung jumlah  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$  yang terlarut.

*Toleransi* Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

*Prosedur keseragaman kandungan* Masukkan 1 tablet yang sudah digerus halus ke dalam gelas piala, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan lebih kurang 25 g es yang sudah dihancurkan, kemudian tambahkan air hingga volume akhir lebih kurang 50 ml. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Titration Nitrimetri* dalam *Titration <711>*, mulai dari "titration perlahan" menggunakan *natrium nitrit 0,01 M LV* yang dibuat segar. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium nitrit 0,01 M setara dengan 4,553 mg  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$*

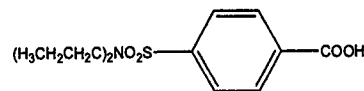
**Penetapan kadar** Timbang dan serbukhaluskan tidak kurang dari 30 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 700 mg primakuin fosfat, masukkan ke dalam gelas piala. Tambahkan 50 ml air dan *asam klorida P* secukupnya sehingga kelebihannya lebih kurang 5 ml. dan lanjutkan penetapan seperti tertera pada *Titration Nitrimetri* dalam *Titration <711>*, mulai dari "dinginkan hingga suhu lebih kurang 15°"

*Tiap ml natrium nitrit 0,01 M setara dengan 45,53 mg  $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## PROBENESID

### Probenecid



*Asam p-(dipropilsulfomoil) benzoat* [ 57-66-9]  
 $C_{13}H_{19}NO_4S$  BM 285,36

Probenesid mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{13}H_{19}NO_4S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur halus; putih atau praktis putih; praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air dan dalam asam encer; larut dalam alkali encer, dalam kloroform, dalam etanol dan dalam aseton.

**Baku pembanding** *Probenesid BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Probenesid BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan dengan kadar lebih kurang 20 µg per ml dalam *etanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Probenesid BPFi*, serapan jenis masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 248 nm berbeda tidak lebih dari 3%.

**Jarak lebur** <1021> Antara 198° dan 200°.

**Keasaman** Pada 2,0 g zat tambahkan 100 ml air, panaskan di atas tangas uap selama 30 menit, dinginkan, saring dan encerkan dengan air hingga 100,0 ml. Pada 25,0 ml larutan tambahkan 1 tetes indikator *fenolftalein LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,01 N LV* hingga warna merah muda; diperlukan tidak lebih dari 0,50 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5 %; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1 %.

**Selenium** <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 100 mg zat yang dicampur dengan 100 mg *magnesium oksida P*.

**Logam berat** <371> *Metode II*; tidak lebih dari 20%.

**Kemurnian kromatografi** Cemarannya masing-masing tidak lebih dari 0,5% dan total cemarannya tidak lebih dari 2,0%.

*Fase gerak, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 20 µl *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak. Hitung persentase dari tiap puncak kecuali puncak pelarut dan puncak probenesid dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_T} \right)$$

$r_i$  adalah respons masing-masing puncak;  $r_T$  adalah jumlah respons semua puncak kecuali puncak pelarut.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode V* Memenuhi syarat.

*Pelarut* Gunakan dimetil sulfoksida *P*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan natrium fosfat monobasa* Buat natrium fosfat monobasa 0,05 M dalam larutan asam asetat glasial *P* (1 dalam 100) dan atur pH hingga 3,0 dengan asam fosfat *P*.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan natrium fosfat monobasa-larutan asam asetat glasial P* (1 dalam 100) dalam asetonitril *P* (50:50), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Probenesid BPHI*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,50 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931> Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L11*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan untuk probenesid tidak lebih dari 2,3; efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 3900 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan berulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{13}H_{19}NO_4S$ , dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Probenesid BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TABLET PROBENESID Probenecid Tablet

Tablet Probenesid mengandung Probenesid,  $C_{13}H_{19}NO_4S$ , tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Probenesid BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105 selama 4 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan seperti tertera pada *Penetapan kadar* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Probenesid BPHI*.

B. Sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 500 mg probenesid, gerus dengan etanol *P* dan saring. Uapkan filtrat hingga lebih kurang 20 ml, dinginkan, asamkan dengan asam klorida *P* hingga bereaksi asam terhadap lakmus *P*, pisahkan hablur dengan penyaringan dan hablurkan kembali dengan etanol encer *P*: hablur yang diperoleh, melebur antara 196° dan 200° yang ditetapkan dengan *Metode III* seperti tertera pada *Penetapan Jarak Lebur atau Suhu Lebur* <1021> dan menunjukkan reaksi *Identifikasi A* seperti tertera pada *Probenesid*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml cairan usus buatan *LP*, tanpa pankreatin, pH 7,5 ± 0,1.

*Alat tipe*: 2 50 rpm

*Waktu*: 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah probenesid yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot (jika perlu encerkan dengan natrium hidroksida 0,1 N) dan bandingkan dengan serapan larutan baku pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 244 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{13}H_{19}NO_4S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman Sediaan** <911> Memenuhi syarat.

### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Probenesid BPHI*, larutkan dalam kloroform *P* dan encerkan secara bertahap dengan kloroform *P* hingga kadar lebih kurang 20 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg probenesid, masukkan ke

dalam labu tentukur 250-ml. Tambahkan *kloroform P* sampai tanda. Saring, buang 20 - 25 ml filtrat pertama dan pipet 5 ml filtrat ke dalam corong pisah 125 ml yang berisi 10 ml *kloroform P*. Ekstraksi lapisan *kloroform empat kali*, tiap kali dengan 15 ml larutan *natrium karbonat P* (1 dalam 100). Asamkan kumpulan ekstrak dengan *asam klorida 5 N* dan ekstraksi empat kali tiap kali dengan 20 ml *kloroform P*. Saring masing-masing ekstrak melalui kapas ke dalam labu tentukur 100-ml. Bilas kapas dengan 10 ml *kloroform P*, tambahkan *kloroform P* sampai tanda.

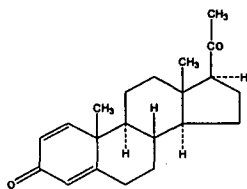
*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 257 nm menggunakan *kloroform P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{13}H_{19}NO_4S$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$5C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Probenesid BPFi* dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PROGESTERON Progesterone



*Pregn-4-ena-3,20-dion* [57-83-0]

$C_{21}H_{30}O_2$

BM 314,47

Progesteron mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{21}H_{30}O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih atau putih krim; tidak berbau; stabil di udara.

**Kelarutan** Larut dalam etanol, dalam aseton dan dalam dioksan; sukar larut dalam minyak nabati; praktis tidak larut dalam air.

**Baku pembanding** *Progesteron BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. Terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya

pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Progesteron BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 100.000) dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Progesteron BPFi*.

**Jarak lebur** <1021> Antara 126° dan 131°. Dapat juga dalam bentuk modifikasi polimorfik, dengan suhu lebur lebih kurang 121°.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +175° dan +183°. Lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *dioksan P* yang mengandung 20 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran air-*isopropil alkohol P* (72:28), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pelarut Larutan etanol P* (85 dalam 100).

*Larutan baku internal* Masukkan lebih kurang 66 mg metiltestosteron ke dalam labu tentukur 10-ml, tambahkan *Pelarut* sampai tanda dan campur.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Progesteron BPFi*, larutkan dan encerkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 2,5 mg per ml. Pipet 4,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 10-ml, tambahkan 1,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda, hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, tambahkan 1,0 ml *Larutan baku internal*, dan encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Kromatografi cair kinerja tinggi* dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 10  $\mu\text{m}$ . Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak, seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak analit dan puncak baku internal tidak kurang dari 3,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan tidak lebih dari 1,5%.

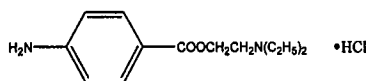
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif progesteron dan metiltestosteron masing-masing adalah lebih kurang 2,0 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{21}H_{30}O_2$ , dengan rumus:

$$10C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar Progesteron BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, pada suhu 25°, yang dibolehkan antara 15° dan 30°.

### PROKAIN HIDROKLORIDA Procaine Hydrochloride



2-(Dietilamino) etil p-aminobenzoat monohidroklorida  
[51-05-8]  
 $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$  BM 272,77

Prokain Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur kecil, putih atau serbuk hablur putih; tidak berbau. Menunjukkan sifat anestetika lokal jika diletakkan di atas lidah.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; larut dalam etanol; sukar larut dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** Prokain Hidroklorida BPFi; lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 18 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Prokaina Hidroklorida BPFi.

B. Larutkan 10 mg zat dalam 1 ml air, tambahkan masing-masing asam klorida P dan larutan natrium nitrit P (1 dalam 10), kemudian tambahkan 1 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 200 mg 2-naftol P dalam 10 ml natrium hidroksida P (1 dalam 10) dan kocok: terbentuk endapan merah terang.

C. Menunjukkan reaksi Klorida seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**Jarak lebur** <1021> Antara 153° dan 158°.

**Keasaman** Pada larutan 1,0 g zat dalam 25 ml air, tambahkan 1 tetes merah metil LP dan titrasi dengan

natrium hidroksida 0,02 N: tidak lebih dari 0,50 ml yang diperlukan untuk penetralan.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 18 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,15%.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 20 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Cemarannya tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Campuran metilen klorida P-metanol P (95:6). Bejana kromatografi disiapkan dengan tempat cairan ganda. Isi tempat pertama dengan amonium hidroksida P, biarkan jenuh selama 1 jam. Tempatkan lempeng pada tempat kedua berisi Fase gerak.

**Penjerap** Campuran silika gel P setebal 0,25 mm yang terlebih dahulu dicuci dengan metanol P kemudian dikeringkan.

**Pelarut** Campuran metanol P-trikloroetan P (7:3).

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Prokain Hidroklorida BPFi, larutkan dalam Pelarut hingga kadar 1,6 mg per ml.

**Enceran larutan baku** Buat satu seri pengenceran Larutan baku dalam Pelarut hingga kadar 0,4 mg; 0,32 mg; 0,16 mg dan 0,08 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 1,6 mg zat, masukkan dalam wadah tertutup rapat, tambahkan 20 ml Pelarut, tutup wadah dan sonikasi selama 2 menit dan gunakan larutan ini sebagai Larutan uji.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l Larutan uji dan Enceran larutan baku pada lempeng kromatografi. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi Fase gerak, biarkan merambat hingga tiga per empat lempeng. Angkat lempeng. Biarkan Fase gerak menguap dan amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet pada bilangan gelombang 254 nm. Bandingkan intensitas setiap bercak lain kecuali bercak utama dalam kromatogram Larutan uji dengan bercak utama dalam kromatogram Enceran larutan baku: tidak ada bercak lain kecuali bercak utama yang lebih intensif dari bercak Enceran larutan baku dengan kadar 0,4 mg per ml (0,5%) dan jumlah intensitas semua bercak lain kecuali bercak utama Larutan uji tidak lebih dari 1,0%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala, tambahkan 100 ml air dingin, 5 ml asam klorida P dan 100 mg kalium bromida P, aduk sampai larut. Lakukan titrasi seperti tertera pada Titrasi Nitrimetri dalam Titrasi <711>, mulai dari "dinginkan hingga suhu lebih kurang 15°".

Tiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 27,28 mg  $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### INJEKSI PROKAIN HIDROKLORIDA Procaine Hydrochloride Injection

Injeksi Prokain Hidroklorida adalah larutan steril Prokain Hidroklorida dalam air untuk injeksi mengandung prokaina hidroklorida C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Prokain Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Endotoksin BPFI*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Uapkan bagian injeksi, setara lebih kurang 20 mg prokain hidroklorida, di atas tangas uap sampai hampir kering, dan keringkan di atas *silika gel P* selama 18 jam; residu menunjukkan reaksi *Identifikasi A* dan *B* seperti tertera pada *Prokain hidroklorida*.

**Endotoksin bakteri** <201> Mengandung tidak lebih dari 0,6 unit Endotoksin FI per mg prokaina hidroklorida.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 5,5.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Persyaratan lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

#### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Prokaina Hidroklorida BPFI*, masukkan ke dalam corong pisah 125 ml dan tambahkan 20 ml air.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 50 mg prokaina hidroklorida, masukkan ke dalam corong pisah 125-ml dan tambahkan 20 ml air.

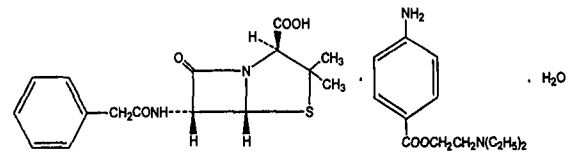
*Prosedur* Ke dalam *Larutan baku* dan *Larutan uji* tambahkan 5 ml *amonium hidroksida 6 N* selanjutnya lakukan sebagai berikut. Ekstraksi lima kali masing-masing dengan 25 ml *klorofom P*, dan saring kumpulan ekstrak melalui lebih kurang 1 g *natrium sulfat anhidrat P* dengan penyangga segumpal wol kaca. Alirkan filtrat ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan *klorofrom P* sampai tanda. Pipet 3 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *klorofom P* sampai tanda. Ukur secara berurutan serapan kedua larutan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 280 nm gunakan *klorofrom P* sebagai blangko. Hitung jumlah prokaina hidroklorida, C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HCl, dalam mg per ml zat yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{W}{V}\right)\left(\frac{A_u}{A_s}\right)$$

*W* adalah bobot *Prokaina Hidroklorida BPFI* yang digunakan dalam mg, *V* adalah volume injeksi yang digunakan dalam ml dan *A<sub>u</sub>* dan *A<sub>s</sub>* berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca tipe I atau tipe II. Injeksi dikemas dalam wadah dosis ganda 100 ml.

### PROKAIN PENISILIN G STERIL Procaini Penicillinum G Sterile



*Asam(2S,5R,6R)-3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenil asetamido)-4-tia-1-azabisiklot[3.2.0]heptan-2-karboksilat bersenyawa dengan 2-(diethylamino)etil 4-aminobenzoat (1:1) monohidrat* [6130-64-9]  
C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S.C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O BM 588,72  
Anhidrat [54-35-3] BM 570,70

Prokain Penisilin G Steril adalah Prokain Penisilin G yang sesuai untuk penggunaan parenteral. Potensi tidak kurang dari 900 unit dan tidak lebih dari 1050 unit Penisilin G FI per mg.

**Pemerian** Hablur putih atau serbuk; putih mikrokristal, sangat halus; tidak berbau atau praktis tidak berbau, relatif stabil dalam udara. Larutannya memutar bidang polarisasi ke kanan. Cepat tidak diaktifkan oleh asam, oleh alkali hidroksida dan oleh zat oksidator.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Kalium Penisilin G BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Prokain Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan. *Endotoksin BPFI* [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Campuran *toluen P-dioksan P-asam asetat glasial P* (90:25:4).

*Pelarut Campuran aseton P-asam sitrat 0,1 M-natrium sitrat 0,1 M (2:1:1)*

*Larutan baku 1* Timbang sejumlah *Kalium Penisilin G BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 12.000 unit Penisilin G per ml.

*Larutan baku 2* Timbang sejumlah *Prokain Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 12.000 unit Penisilin G per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 100 µl *Larutan uji*, *Larutan baku 1* dan *Larutan baku 2* pada jarak yang sama, 2,5 cm dari tepi lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*. Biarkan merambat tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet pada gelombang 254 nm dan 366 nm, tandai bercak. Semprot lempeng dengan *kanji LP* kemudian dengan *iodum LP* (1 dalam 10). Penisilin G terlihat sebagai bercak putih dengan latar belakang ungu:  $R_f$  bercak utama Penisilin G yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku 1*. Semprot bercak yang terlihat di bawah cahaya ultraviolet dengan *p-dimetil amino-benzaldehida P* dalam larutan *metanol P* (1 dalam 20). Prokain tampak sebagai bercak kuning terang: harga  $R_f$  bercak utama prokain yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku 2*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,01 unit Endotoksin FI per 100 unit Penisilin G FI.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Prosedur uji menggunakan penyaringan membran*, kecuali menggunakan *Cairan A* yang mengandung *penisilinase P* steril secukupnya untuk menginaktivkan penisilin G dan goyang bejana sampai homogen, kemudian saring.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan jenuh yang mengandung lebih kurang 300 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Antara 2,8% dan 4,2%.

**Kandungan penisilin G dan prokain penisilin G** Antara 51,0% dan 59,9%  $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ ; prokain antara 37,5% dan 43,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Larutkan 14 g *kalium fosfat monobasa P* dan 6,5 g larutan *tetrabutylamonium hidroksida P* (4 dalam 10) dalam lebih kurang 700 ml air, atur hingga pH 7,0 dengan penambahan *kalium hidroksida 1 N*, encerkan dengan air hingga 1000 ml. Campur 500 ml

larutan dengan 250 ml *asetonitril P* dan 250 ml air. Atur pH hingga  $7,5 \pm 0,05$  dengan penambahan *kalium hidroksida 1 N*, atau larutan *asam fosfat P* (1 dalam 10), saring menggunakan penyaring membran porositas 5 µm atau lebih halus dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Kalium Penisilin G BPFi* dan *Prokain Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,8 mg per ml dan 0,54 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 70 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 30 ml *Fase gerak*, sonikasi hingga larut, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Buat larutan *Kalium Penisilin V* dalam *Fase gerak*, hingga kadar 2,4 mg per ml. Campur 1 bagian volume larutan ini dengan 3 bagian volume *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 235 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak penisilin G dan penisilin V tidak kurang dari 2,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif prokain dan penisilin G berturut-turut lebih kurang 1,0 dan 2,2. Hitung persentase penisilin G,  $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ , dalam sediaan yang digunakan dengan rumus:

$$50 C \left( \frac{G_s}{W_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Kalium Penisilin G BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $G_s$  adalah kandungan penisilin G dalam persen pada *Kalium Penisilin G BPFi*;  $W_u$  adalah jumlah dalam mg prokain penisilin G yang digunakan;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak penisilin G dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Hitung persentase prokain,  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ , dalam sediaan dengan rumus:

$$\left( \frac{236,31}{272,77} \right) \left( \frac{50 C}{W_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

236,31 dan 272,77 berturut-turut adalah bobot molekul prokain dan prokain hidroksida;  $C$  adalah kadar *Prokain Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $W_u$  adalah jumlah dalam mg prokain penisilin G steril yang



digunakan;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak prokain dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar**

*Larutan baku* Gunakan *Kalium Penisilin G BPFi*, buat seperti tertera pada *Larutan baku* dalam *Penetapan Kadar Antibiotik secara Iodometri <521>*.

*Larutan uji* Buat seperti tertera pada *Penetapan Kadar Antibiotik secara Iodometri <521>*. Lakukan penetapan menggunakan lebih kurang 100 mg zat yang ditimbang saksama, larutkan dalam 2,0 ml *metanol P* dan encerkan secara kuantitatif dengan *Dapar nomor 1* hingga kadar lebih kurang 2000 unit Penisilin G FI per ml.

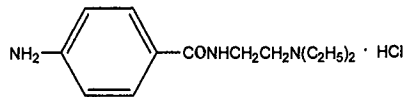
*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan Kadar Antibiotik secara Iodometri <521>*. Hitung potensi dalam unit penisilin G FI per ml dari prokain penisilin G yang digunakan dengan rumus:

$$F \left( \frac{B - 1}{2D} \right)$$

*D* adalah kadar dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan bobot Prokain Penisilin G yang digunakan dan pengencerannya.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah untuk Padatan Steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

**PROKAINAMIDA HIDROKLORIDA**  
**Procainamide Hydrochloride**



*p-Amino;N-[2-dietilamino] etil ] benzamida monohidroklorida [614-39-1]*  
 $C_{13}H_{21}N_3O.HCl$  BM 271,79

Prokainamida Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{13}H_{21}N_3O.HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga kuning cokelat; tidak berbau; pH larutan (1 dalam 10) antara 5,0 dan 6,5.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; larut dalam etanol; agak sukar larut dalam kloroform; sangat sukar larut dalam benzen dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Prokainamida Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*,

menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Prokainamida Hidroklorida BPFi*.

Lakukan identifikasi menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Cemaran Umum <481>*.

*Larutan baku* Gunakan larutan baku *Prokainamida Hidroklorida BPFi* 0,2 mg per ml; buat seperti tertera pada *Cemaran Umum <481>*.

*Larutan uji* Encerkan *Larutan uji* seperti tertera pada *Cemaran Umum <481>* dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Penjerap, Fase gerak dan Penampak bercak* Lakukan seperti tertera pada *Cemaran Umum <481>*.

*Prosedur* Lakukan penetapan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Cemaran Umum <481>*. Harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

**Jarak lebur <1021>** *Metode I* Antara 165° dan 169°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,3%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371>** *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Asam p-aminobenzoat bebas** Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *butil eter P-heksan P-asam asetat glisial P* (80:16:4).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *asam p-aminobenzoat P*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 0,24 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama 1000 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan *metanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 6  $\mu$ l *Larutan uji* dan 1  $\mu$ l *Larutan baku* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*. Biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan kering di udara, amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Ukuran atau intensitas bercak yang diperoleh dari *Larutan uji* pada harga  $R_f$  yang sama tidak melebihi ukuran atau intensitas bercak utama dari *Larutan baku*.

**Cemaran umum <481>**

*Larutan uji* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Larutan baku* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Penjerap* Gunakan *silika gel P* untuk kromatografi.

*Fase gerak* Campuran *kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P* (70:30:0,7).

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 1 dengan penampak bercak larutan *fluoreskamina P*

dalam aseton P (1 dalam 2000) dan amati di bawah cahaya ultraviolet 366 nm.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
*Metode I* Memenuhi syarat.

**Penetapan Kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran air-metanol P-trietilamin P (140:60:1), atur pH  $7,5 \pm 0,1$  dengan asam fosfat P, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Prokainamida Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga diperoleh larutan baku persediaan dengan kadar lebih kurang 0,5 mg per ml. Encerkan larutan ini dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan resolusi* Larutkan sejumlah asam p-amino benzoat P dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml larutan baku persediaan yang digunakan untuk membuat *Larutan baku*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml yang kedua, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. *Kromatografi cair kinerja tinggi* dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 10  $\mu\text{m}$ . Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak, seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara puncak asam p-aminobenzoat dan prokainamida tidak kurang dari 2,0. Waktu retensi relatif asam p-amino benzoat dan prokainamida berturut-turut adalah lebih kurang 0,5 dan 1,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak, seperti tertera pada *Prosedur: simpangan baku* relatif pada penyuntikan tidak lebih dari 2,0%.

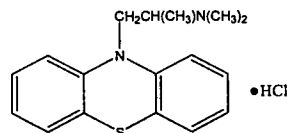
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg prokainamida hidroklorida,  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}\cdot\text{HCl}$ , dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Prokainamida Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PROMETAZIN HIDROKLORIDA Promethazine Hydrochloride



10-[2-(Dimetilamino)propil]fenotiazina  
monohidroklorida [58-33-3]

$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{S}\cdot\text{HCl}$

BM 320,88

Prometazin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,5%  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{S}\cdot\text{HCl}$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai kuning lemah; praktis tidak berbau; jika dibiarkan lama di udara berwarna biru.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air, dalam etanol mutlak panas dan dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter, dalam aseton dan dalam etilasetat.

**Baku pembanding** *Prometazin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 4 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Prometazin Hidroklorida BPFi*.

B. Menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

pH <1071> Antara 4,0 dan 5,0; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).

**Kesempurnaan dan kejernihan larutan** Buat larutan secara terpisah 1 bagian zat dalam 10 bagian air dan 1 bagian zat dalam 10 bagian kloroform P. Tiap larutan menunjukkan warna tidak lebih dari kuning muda dan praktis jernih. [Catatan Selama pengerjaan lindungi zat uji, baku pembanding dan larutan yang mengandung zat uji dan baku pembanding, lakukan segera tanpa penundaan, pada cahaya yang redup atau menggunakan kaca atinik rendah.]

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Senyawa sejenis** Jumlah cemaran tidak lebih besar dari 2,0% dan tidak ada cemaran tunggal yang lebih besar dari

1,0%. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak Campuran etil asetat P-aseton P-etanol P-amonium hidroksida P (90:45:2:1).*

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Prometazin Hidroklorida BPHI*, larutkan dalam *metilen klorida P* hingga kadar 10,0 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Buat serangkaian pengenceran secara kuantitatif *Larutan baku* dalam *metilen klorida P* hingga kadar 0,2 mg; 0,1 mg; 0,05 mg dan 0,025 mg per ml berturut-turut sesuai dengan cemaran 2,0%, 1,0%, 0,5% dan 0,25%.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dalam 10,0 ml *metilen klorida P*.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji*, *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku* pada jarak yang sama 2,5 cm dari tepi bawah lempeng *silika gel P 20 cm x 20 cm* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang tidak jenuh. Biarkan merambat tidak kurang dari 10 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, keringkan di udara, amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan harga  $R_f$  bercak utama *Larutan baku*. Lakukan estimasi kadar masing-masing bercak lain pada *Larutan uji* dengan membandingkan terhadap bercak *Enceran larutan baku*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 700 mg zat, larutkan dalam campuran 75 ml *asam asetat glasial P* dan 10 ml *raksa(II) asetat LP*. Tambahkan satu tetes indikator *kristal violet LP*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga berwarna biru. Lakukan penetapan blanko.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 32,09 mg  $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI PROMETAZIN HIDROKLORIDA Promethazine Hydrochloride Injection

Injeksi *Prometazin Hidroklorida* adalah larutan steril *Prometazin Hidroklorida* dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung *prometazin hidroklorida* yang setara dengan tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Baku pembanding

*Prometazin Hidroklorida BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. [Catatan Selama pengerjaan lindungi zat uji, baku pembanding dan larutan yang mengandung zat uji dan baku pembanding, lakukan segera tanpa penundaan, pada cahaya yang redup atau menggunakan kaca atinik rendah.] *Endotoksin BPHI*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk

*menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Endotoksin bakteri <201>** Mengandung tidak lebih dari 5,0 Unit Endotoksin FI per mg *prometazin hidroklorida*.

**Identifikasi** Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 50 mg *prometazin hidroklorida*, tambahkan pada 20 ml larutan *asam klorida P (1 dalam 1000)* dalam corong pisah. Cuci larutan ini dengan 20 ml *metilen klorida P*, buang larutan pencuci. Tambahkan 2 ml *natrium hidroksida 1 N* dan 20 ml *metilen hidroklorida P*, kocok selama 2 menit. Uapkan ekstrak *metilen hidroksida* di atas tangas uap dengan bantuan aliran gas *nitrogen P* sampai kering. Larutkan residu dalam 4 ml *karbon disulfida P*, jika perlu saring dan tentukan spektrum serapan inframerah seperti tertera pada *Identifikasi Batas Nitrogen Organik <261>*, tentukan spektrum inframerah *Prometazin Hidroklorida BPHI*; injeksi memenuhi persyaratan uji.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 5,5.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Larutkan 1 g *natrium 1-pentanasulfonat P* dalam 500 ml air, tambahkan 500 ml *asetonitril P* dan 5 ml *asam asetat glasial P*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Prometazin Hidroklorida BPHI*, larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan pelarut yang sama hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi lebih kurang 50 mg *prometazin hidroklorida*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Masukkan 10,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah *fenotiazin P* dalam *Larutan baku* hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. *Kromatografi cair kinerja tinggi* dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L11*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak *prometazin* dan puncak *fenotiazin* tidak kurang dari 3,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 30 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif prometazin dan fenotiazin masing-masing adalah lebih kurang 1,0 dan 1,6. Hitung jumlah dalam mg prometazin hidroklorida,  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ , per ml injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Prometazin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume dalam ml, injeksi yang digunakan;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda sebaiknya dari kaca Tipe I, terlindung cahaya.

### SIRUP PROMETAZIN HIDROKLORIDA Promethazine Hydrochloride Syrup

Sirup Prometazin Hidroklorida mengandung Prometazin Hidroklorida,  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Prometazin Hidroklorida BPFi*; keringkan pada 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. [Catatan Selama pengerjaan, lindungi zat uji, baku pembanding dan larutan yang mengandung zat uji dan baku pembanding, lakukan segera tanpa penundaan, di bawah cahaya redup atau menggunakan kaca aktinik rendah.]

**Identifikasi** Sejumlah 25 ml sirup, masukkan ke dalam corong pisah 250 ml, tambahkan 10 ml *amonium hidroksida P* dan ekstraksi sebanyak enam kali, tiap kali dengan 40 ml *kloroform P*. Cuci ekstrak kloroform dengan 25 ml *asam klorida P* (1 dalam 9). Cuci larutan asam dengan 25 ml *kloroform P* dan tambahkan cucian tersebut ke dalam kumpulan ekstrak kloroform. Uapkan ekstrak kloroform di atas tangas uap dengan bantuan aliran udara, hingga volume antara 5 - 10 ml. Kemudian uapkan menggunakan aliran udara hingga kering. Larutkan residu dalam 2,5 ml *karbon disulfida P*. Jika perlu saring melalui kertas saring dan tentukan spektrum serapan inframerah seperti tertera pada *Identifikasi Basa Nitrogen Organik <261>*, tentukan spektrum inframerah *Prometazin Hidroklorida BPFi*: sirup memenuhi syarat uji.

**Penetapan kadar** [Catatan Gunakan alat gelas aktinik rendah dalam penetapan ini.]

*Pelarut Larutan asam klorida P* (1 dalam 9).

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume sirup setara dengan lebih kurang 25 mg prometazin hidroklorida, masukkan ke dalam corong pisah 250 ml, tambahkan 10 ml *amonium hidroksida P* dan ekstraksi sebanyak enam kali, tiap kali dengan 40 ml *kloroform P*. Cuci ekstrak kloroform dengan 25 ml *Pelarut*. Cuci larutan asam dengan 25 ml *kloroform P* dan tambahkan cucian tersebut ke dalam kumpulan ekstrak kloroform. Uapkan ekstrak kloroform di atas tangas uap dengan bantuan aliran udara, hingga volume antara 5 - 10 ml. Kemudian uapkan menggunakan aliran udara hingga kering. Larutkan residu dengan *Pelarut* hangat dan masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml dengan bantuan penambahan asam. Dinginkan, tambahkan *Pelarut* sampai tanda dan saring, buang setengah filtrat yang pertama.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Prometazin Hidroklorida BPFi*, larutkan dan encerkan secara bertahap dengan *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 50 µg per ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Pelarut* dalam kuvet 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 298 nm, menggunakan *Pelarut* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg prometazin hidroklorida,  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$  dalam tiap ml sirup yang digunakan, dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Prometazin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume dalam ml sirup yang digunakan;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### TABLET PROMETAZIN HIDROKLORIDA Promethazine Hydrochloride Tablet

Tablet Prometazin Hidroklorida mengandung Prometazin Hidroklorida,  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Prometazin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. [Catatan Selama pengerjaan lindungi zat uji, baku pembanding dan larutan yang mengandung zat uji dan baku pembanding, lakukan segera tanpa penundaan, di bawah cahaya redup atau gunakan peralatan kaca aktinik rendah.]

**Identifikasi** Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg prometazin hidroklorida, tambahkan 20 ml kloroform P, kocok dan saring ke dalam gelas piala. Uapkan kloroform, larutkan residu dengan 40 ml larutan asam klorida P (1 dalam 1000) dan masukkan ke dalam corong pisah. Ke dalam corong pisah kedua larutkan 50 mg *Prometazin Hidroklorida BPFi* dengan 40 ml larutan asam klorida P (1 dalam 1000). Pada masing-masing larutan tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 N dan 15 ml karbon disulfida P, kocok selama 2 menit. Jika perlu sentrifus untuk memperoleh lapisan bagian bawah yang jernih, lewatkan pada penyaring kering, kumpulkan filtrat dalam labu bersumbat. Kurangi volume ekstrak karbon disulfida hingga 4 - 5 ml, lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi Basa Nitrogen Organik <261>*, mulai dari "segera ukur serapan".

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi:* 900 ml asam klorida 0,01 N.

*Alat tipe 1:* 100 rpm.

*Waktu:* 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 249 nm, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, bandingkan dengan larutan baku *Prometazin BPFi* yang telah diketahui kadarnya.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q),  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.**

*Prosedur keseragaman kandungan* Serbukkan 1 tablet, masukan ke dalam labu tentukur 100-ml tambahkan 50 ml larutan asam sitrat P (1 dalam 100), kocok secara mekanik selama 15 menit. Encerkan dengan larutan asam sitrat P (1 dalam 100) sampai tanda dan sentrifus 50 ml larutan. Pipet beningan setara dengan 5 mg prometazin hidroklorida ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan larutan asam sitrat P (1 dalam 100) sampai tanda. Ukur serapan larutan dan larutan baku *Prometazin Hidroklorida BPFi* dalam pelarut yang sama dengan kadar 50 µg per ml. Ukur serapan larutan uji dan larutan baku pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 298 nm menggunakan larutan asam sitrat (1 dalam 100) sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg prometazin hidroklorida,  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ , dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{TC}{D}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

T adalah jumlah prometazin hidroklorida dalam mg per tablet yang tertera pada etiket; C adalah kadar *Prometazin Hidroklorida BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; D adalah kadar prometazin hidroklorida dalam µg per ml *Larutan uji*, dari jumlah per tablet seperti tertera pada

etiket dan tingkat pengenceran;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar**

*Larutan paladium klorida yang didapar* Masukkan 500 mg paladium klorida P ke dalam gelas piala yang sesuai, tambahkan 5 ml asam klorida P dan hangatkan di atas tangas uap. Tambahkan 200 ml air hangat sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai larut. Dinginkan dan encerkan dengan air hingga 500 ml dan campur. Pipet 25 ml larutan ke dalam labu tentukur 500-ml. Tambahkan 50 ml natrium asetat 1 N dan 48 ml asam klorida 1 N, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 31 mg *Prometazin Hidroklorida BPFi* masukkan ke dalam labu tentukur kaca aktinik rendah 250-ml. Larutkan dan encerkan dengan asam klorida 0,1 N sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet yang setara dengan lebih kurang 6,25 mg prometazin hidroklorida, masukkan ke dalam corong pisah kaca aktinik rendah 125 ml. Tambahkan 20 ml larutan kalium klorida P jenuh, 10 ml natrium hidroksida 1 N dan 10 ml metanol P, ekstraksi tiga kali tiap kali menggunakan 20 ml n-heptan P, saring ekstrak heptan melalui natrium sulfat anhidrat P dan kumpulkan dalam corong pisah kaca aktinik rendah 125 ml. Ekstraksi larutan n-heptan tiga kali tiap kali menggunakan 15 ml asam klorida 0,1 N, kumpulkan ekstrak asam dalam labu tentukur kaca aktinik rendah 50 ml, encerkan dengan asam klorida 0,1 N sampai tanda.

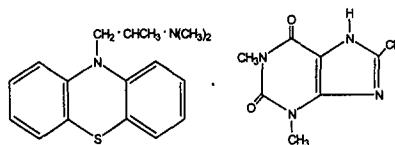
*Prosedur* Pipet masing-masing 2 ml *Larutan baku*, *Larutan uji* dan asam klorida 0,1 N sebagai blangko dalam tabung reaksi secara terpisah. Tambahkan 3 ml *Larutan paladium klorida yang di dapar* ke dalam setiap tabung reaksi dan kocok. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 470 nm. Hitung jumlah dalam mg prometazin hidroklorida,  $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$50C\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

C adalah kadar *Prometazin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

## PROMETAZIN TEOKLAT Promethazine Teoclate



10-[2-(Dimetilamino)propil]fenotiazin 8-kloroteofilina  
[17693-51-5]  
 $C_{17}H_{20}N_2S.C_7H_7ClN_4O_2$  BM 499,0

Prometazin Teoklat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{17}H_{20}N_2S.C_7H_7ClN_4O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Serbuk putih atau hampir putih; tidak berbau atau hampir tidak berbau.

Kelarutan Sangat sukar larut dalam air; larut dalam 70 bagian etanol; larut dalam 2,5 bagian kloroform dan praktis tidak larut dalam eter.

Baku pembandingan Prometazin BPFi; Isoprometazin BPFi.

### Identifikasi

A. Kocok 150 mg zat dengan 2,5 ml air, tambahkan 1 ml amonia LP dan ekstraksi dengan 30 ml eter P. Cuci ekstrak eter dengan 10 ml air, keringkan dengan natrium sulfat anhidrat P dan uapkan eter hingga kering. Larutkan residu dalam 1 ml kloroform P. Spektrum serapan inframerah larutan ini menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Prometazin BPFi.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 0,0014% dalam etanol mutlak P yang mengandung 0,01% v/v amonium hidroksida P, pada panjang gelombang 230 - 350 nm, menunjukkan maksimum pada 255 nm: serapan pada 255 nm lebih kurang 1,1.

C. Larutkan 5 mg zat dalam 2 ml asam sulfat P, biarkan selama 5 menit: terjadi warna merah.

D. Kocok 400 mg zat dengan 10 ml air, tambahkan 4 ml amonia LP, ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 30 ml eter P dan tambahkan 4 ml asam klorida P ke dalam lapisan air. Saring endapan putih, cuci dengan air dan keringkan pada suhu 105°. Larutkan 10 mg endapan dalam 1 ml asam klorida P, tambahkan 100 mg kalium klorat P dan uapkan hingga kering: terjadi endapan berwarna kemerahan dan berubah menjadi ungu dengan paparan uap amonia LP.

E. Lebur 50 mg sisa pada uji D dengan 500 mg natrium karbonat anhidrat P, dididihkan dengan 5 ml air, asamkan dengan asam nitrat P (terhadap kertas lakmus) dan saring. Filtrat menunjukkan reaksi Klorida cara A seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum. <291>.

Klorida Tidak lebih dari 350 bpj; lakukan penetapan menggunakan 300 mg zat, kocok dengan 30 ml air selama 2 menit dan saring. 15 ml filtrat memenuhi syarat Uji Batas Klorida <361>, menggunakan 2 ml asam nitrat P untuk mengganti 1 ml asam nitrat 2 N.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° hingga bobot tetap, menggunakan lebih kurang 1 g zat.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Senyawa sejenis Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>. [Catatan Larutan harus dibuat segar.]

Fase gerak Campuran n-heksan P-aseton P-dietilamin P (85:10:5).

Pelarut Campuran metanol P-dietilamin P (95:5)

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam Pelarut hingga kadar 2,0%.

Enceran larutan uji Encerkan Larutan uji dengan Pelarut hingga kadar 0,010%.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Isoprometazin Hidroklorida BPFi, larutkan dalam Pelarut hingga kadar 0,020%.

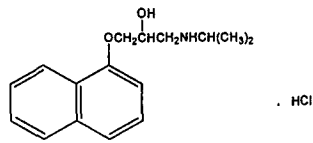
Prosedur Totolkan masing-masing 10 µl Larutan uji, Enceran larutan uji dan Larutan baku pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 cm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan Fase gerak. Angkat lempeng. Biarkan menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 365 nm. Bercak dalam kromatogram Larutan uji yang sesuai dengan isoprometazin, tidak lebih intensif dari bercak kromatogram Larutan baku. Bercak lain selain bercak utama dalam kromatogram Larutan uji tidak lebih intensif dari bercak kromatogram Enceran larutan uji.

Penetapan kadar Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, larutkan dalam 200 ml aseton P, titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV menggunakan indikator 3 ml larutan jenuh jingga metil P dalam aseton P.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N  
setara dengan 49,90 mg  $C_{17}H_{20}N_2S.C_7H_7ClN_4O_2$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

**PROPRANOLOL HIDROKLORIDA**  
**Propranolol Hydrochloride**



2-Propranolol, 1-[(1-metiletil)amino]-3-(1-naptaleniloksi)-hidroklorida, (±)-(±)-1-(isopropilamino)-3-(1-naptiloksi)-2-propanol hidroklorida [318-98-9]  
 $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$  BM 295,80

Propranolol Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,5%  $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk putih atau hampir putih; tidak berbau; rasa pahit.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam etanol; sukar larut dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** Propranolol Hidroklorida BPFi; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam minyak mineral P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Propranolol Hidroklorida Hidroklorida BPFi.

B. Waktu retensi puncak utama propranolol pada kromatogram Larutan uji, sama dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar.

C. Menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -1,0° dan +1,0°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam air yang mengandung 40 mg per ml.

**Jarak lebur** <1021> Metode III antara 162° dan 165°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> Metode I Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Larutkan 500 mg dodesil natrium sulfat P dalam 18 ml asam fosfat 0,15 M, tambahkan 90 ml

asetonitril P dan 90 ml metanol P, encerkan dengan air hingga 250 ml, campur dan saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih halus. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Propranolol Hidroklorida BPFi larutkan dalam metanol P hingga diperoleh larutan baku persediaan dengan kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan metanol P sampai tanda, campur dan saring melalui penyaring dengan porositas 0,7 µm atau lebih halus. Larutan mengandung lebih kurang 0,2 mg Propranolol Hidroklorida BPFi per ml.

Larutan resolusi Buat larutan Prokainamida hidroklorida P dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 0,25 mg per ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 5 ml larutan baku persediaan yang digunakan untuk membuat Larutan baku, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 45 ml metanol P, kocok dan sonikasi selama 5 menit. Encerkan dengan metanol P sampai tanda, saring melalui penyaring dengan porositas 0,7 µm atau lebih halus. Pipet 5 ml filtrat ini ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatografi cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 290 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama, seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif prokainamida dan propranolol berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0 dan resolusi, R, antara puncak prokainamida dan puncak propranolol tidak kurang dari 2,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama, seperti tertera pada Prosedur: faktor ikutan puncak propranolol tidak lebih dari 3,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg propranolol hidroklorida,  $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$  dengan rumus:

$$250C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Propranolol Hidroklorida BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak propranolol Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat. Pada suhu 25°, yang dibolehkan antara 15° dan 30°.

### INJEKSI PROPRANOLOL HIDROKLORIDA Propranolol Hydrochloride Injection

Injeksi Propranolol Hidroklorida adalah larutan steril Propranolol Hidroklorida dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung Propranolol Hidroklorida yang setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Propranolol Hidroklorida BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. *Endotoksin BPHI*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Endotoksin Bakteri <201>** Mengandung tidak lebih dari 55,6 unit Endotoksin FI per mg propranolol hidroklorida.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama propranolol pada kromatogram *Larutan uji*, sama dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**pH <1071>** Antara 2,8 dan 4,0.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Propranolol Hidroklorida*.

*Larutan uji* Pipet sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 5 mg propranolol hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Propranolol Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg propranolol hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>.HCl, per ml injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$25 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Propranolol Hidroklorida BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume injeksi dalam ml, yang digunakan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal, tidak tembus cahaya, sebaiknya dari kaca Tipe I.

### TABLET PROPRANOLOL HIDROKLORIDA Propranolol Hydrochloride Tablet

Tablet Propranolol Hidroklorida mengandung Propranolol Hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>.HCl, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Propranolol Hidroklorida BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama propranolol pada kromatogram *Larutan uji*, sama dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi*: 1000 ml larutan *asam klorida P* (1 dalam 100)

*Alat tipe I*: 100 rpm

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>.HCl yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, bandingkan dengan serapan larutan baku *Propranolol Hidroklorida BPHI* dalam media yang sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 289 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>.HCl, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

*Prosedur keseragaman kandungan*

*Larutan uji* Masukkan 1 tablet ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5 ml larutan *asam klorida P* (1 dalam 100), biarkan sambil sesekali digoyang sampai hancur. Tambahkan lebih kurang 70 ml *metanol P*, sonikasi selama lebih kurang 1 menit. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Sentrifus sebagian larutan, encerkan beningan dengan *metanol P* secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 40 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Propranolol Hidroklorida BPHI*, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 40 µg per ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 290 nm, menggunakan *metanol P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg propranolol hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>.HCl, dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$\left( \frac{T}{D} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*T* adalah jumlah mg propranolol hidroklorida dalam tablet yang tertera pada etiket; *D* adalah kadar *Larutan uji* dalam µg per ml, berdasarkan kadar tiap tablet yang tertera pada etiket dan pengenceran yang dilakukan;



C adalah kadar *Propranolol Hidroklorida BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_s$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Propranolol Hidroklorida*.

*Larutan uji* Timbang dan serbuk haluskan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg propranolol hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 40 ml *metanol P*, kocok dan sonikasi selama 5 menit. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda, dan saring melalui penyaring dengan porositas 0,7 µm atau lebih halus. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

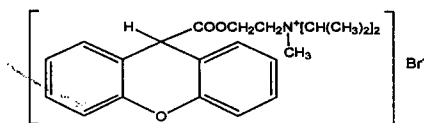
*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Propranolol Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg propranolol hidroklorida,  $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$250 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Propranolol Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

### PROPANTELIN BROMIDA Propantheline Bromide



*2-Propanaminium, N-metil-N-(1-metiletil)-N-[2-[(9H-xanten-9-ilkarbonil)oksi]etil]-, bromida (2-Hidroksietil) diisopropilmetilamonium bromida xantena-9-karboksilat [50-34-0]*

$C_{23}H_{30}BrNO_3$

BM 448,39

Propantelin Bromida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{23}H_{30}BrNO_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur; putih atau praktis putih; tidak berbau; rasa pahit; melebur pada suhu lebih kurang 160° disertai penguraian.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air, dalam etanol dan dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter dan dalam benzen.

**Baku pembanding** *Propantelin Bromida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. *9-Hidroksipropantelin Bromida BPFi*; simpan dalam wadah tertutup rapat, pada suhu ruang terkendali, simpan dalam desikator terlindung cahaya. Jika wadah sering dibuka, isi wadah dengan gas inert pada tekanan atmosfer (nitrogen atau argon). *Asam Xantanoat BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Xanton BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah residu pada lempeng garam tunggal yang dibuat sebagai berikut: Buat 3 ml larutan dalam *kloroform P* dengan kadar lebih kurang 6 mg per ml dan simpan 1 ml untuk uji *Identifikasi B*. Dalam lemari asam, teteskan 2 ml larutan pada lempeng garam disertai penguapan pelarut terus menerus dengan panas lampu inframerah dan udara kering mengalir, panaskan residu pada suhu 105° selama 15 menit, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Propantelin Bromida BPFi*.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl (1) *Larutan uji Identifikasi A* dalam *kloroform P* dan (2) *Larutan Propantelin Bromida BPFi* dalam *kloroform P* dengan kadar 6 mg per ml pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng kromatografi ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak *asam klorida 1 N-aseton P (1:1)*, biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai tepi batas perambatan dan panaskan pada suhu 105° selama 5 menit. Semprot lempeng dengan *kalsium bismut iodida LP* dan panaskan pada suhu 105° selama 5 menit: harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

C. Pada 5 ml larutan (1 dalam 100) tambahkan 2 ml *asam nitrat 2 N*: larutan menunjukkan reaksi *Bromida* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*, kecuali jika pada pengujian timbul brom bebas, lapisan kloroform berwarna kuning.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan dapar pH 3,5* Pada labu tentukur 2000-ml, larutkan 17,3 g *dodesil natrium sulfat P* dengan 1000 ml

air yang mengandung 10 ml larutan asam fosfat P. Tambahkan 250 ml natrium hidroksida 0,5 N sambil diaduk. Tambahkan natrium hidroksida 0,5 N atau larutan asam fosfat P (1 dalam 10) secukupnya hingga pH 3,5±0,05 dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Fase gerak** Buat campuran asetonitril P-Larutan dapar pH 3,5 (55:45), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah 9-Hidroksi propantelin Bromida BPF<sub>I</sub>, Asam Xantanoat BPF<sub>I</sub> dan Xanton BPF<sub>I</sub>, larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 6,0 µg; 1,5 µg dan 1,5 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 60 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Kromatografi cair kinerja tinggi* dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7. Laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatografi dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; resolusi, R, antara dua puncak tidak kurang dari 1,2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 6,0% untuk masing-masing komponen.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram tidak kurang dari 1,5 kali waktu retensi puncak propantelin bromida, dan ukur respons masing-masing puncak, kecuali puncak-puncak pada atau sebelum volume terbuang. Hitung persentase asam xantanoat, xanton dan 9-hidroksipropantelin bromida, lebih besar atau sama dengan 0,1% dalam propantelin bromida yang digunakan dengan rumus:

$$20 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar asam xantanoat, xanton dan 9-hidroksi propantelin bromida dalam µg per ml *Larutan baku*; W adalah bobot propantelin bromida dalam mg yang digunakan; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis *Larutan uji* dan *Larutan baku*; berturut-turut 9-hidroksipropantelin bromida tidak lebih dari 2,0%, asam xantanoat dan xanton masing-masing tidak lebih dari 0,5%. Hitung persentase jumlah cemaran yang tidak diketahui yang lebih besar atau sama dengan 0,1% dengan rumus :

$$100 \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

r<sub>i</sub> adalah respon puncak cemaran yang tidak diketahui dan r<sub>t</sub> adalah jumlah semua respons puncak yang terukur dalam kromatogram: jumlah keseluruhan cemaran yang diketahui dan yang tidak diketahui tidak lebih dari 3,0%.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode I* Memenuhi syarat.

**Kandungan bromida** Tidak kurang dari 17,5% dan tidak lebih dari 18,2% Br dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 40 ml air. Tambahkan 10 ml asam asetat glasial P dan 40 ml metanol P, tambahkan eosin Y LP dan titrasi dengan perak nitrat 0,1 N LV.

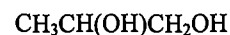
Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 7,990 mg Br

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 600 mg zat, larutkan dalam campuran 20 ml asam asetat glasial P dan 15 ml raksa(II) asetat LP, jika perlu hangatkan. Dinginkan hingga suhu ruang, dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blanko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 44,84 mg C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>BrNO<sub>3</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### PROPILEN GLIKOL Propylene Glycol



1,2-Propanadiol [57-55-6]  
C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

BM 76,09

Propilen Glikol mengandung tidak kurang dari 99,5% C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>.

**Pemerian** Cairan kental, jernih, tidak berwarna; rasa khas; praktis tidak berbau; menyerap air pada udara lembab.

**Kelarutan** Dapat bercampur dengan air, dengan aseton, dan dengan kloroform; larut dalam eter dan dalam beberapa minyak esensial; tidak dapat bercampur dengan minyak lemak.

**Baku pembanding** *Propilen Glikol BPF<sub>I</sub>*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah dari lapisan tipis menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Propilen Glikol BPF<sub>I</sub>*.

**Bobot jenis** <981> Antara 1,035 dan 1,037.

**Keasaman** Tambahkan 1 ml *fenolftalein LP* pada 50 ml air, tambahkan *natrium hidroksida 0,10 N* hingga larutan berwarna merah muda yang tetap selama 30 detik. Tambahkan 10 ml propilen glikol yang diukur saksama, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,10 N* hingga warna merah muda timbul kembali dan tetap selama 30 detik: diperlukan tidak lebih dari 0,20 ml *natrium hidroksida 0,10 N*.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,2%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 3,5 mg; lakukan penetapan sebagai berikut: Panaskan 50 g zat dalam cawan dangkal 100 ml yang sudah ditara sampai memijar, biarkan terbakar tanpa pemanasan lebih lanjut dalam tempat bebas aliran udara. Dinginkan, basahkan residu dengan 0,5 ml *asam sulfat P*, dan pijarkan hingga bobot tetap.

**Klorida** Tidak lebih dari 70 bpj; lakukan penetapan menggunakan 1 ml zat: kekeruhan yang terjadi tidak lebih intensif dari 0,10 ml *asam klorida 0,020 N*.

**Sulfat** <361> Tidak lebih dari 60 bpj; lakukan penetapan menggunakan 1 ml zat: kekeruhan yang terjadi tidak lebih kuat dari 0,30 ml *asam sulfat 0,020 N*.

**Arsen** <321> *Metode I* Tidak lebih dari 3 bpj.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 5 bpj; lakukan penetapan menggunakan campuran 4,0 ml zat dengan air hingga 25 ml.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode IV* Memenuhi syarat.

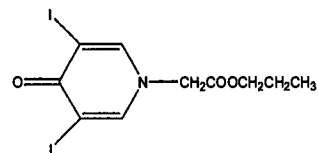
**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Kromatografi gas* dilengkapi dengan detektor konduktivitas panas, dan kolom 1 m x 4 mm berisi bahan pengisi 5% *G16* pada partikel penyangga *S5*. Suhu injektor dan detektor, berturut-turut 240° dan 250°. Kenaikan suhu kolom diatur rata-rata 5° per menit mulai dari 120° hingga 200°; gunakan *helium P* sebagai gas pembawa. Waktu retensi untuk propilen glikol lebih kurang 5,7 menit dan untuk ke 3 isomer dipropilen glikol, jika ada, berturut-turut lebih kurang 8,2 menit; 9,0 menit dan 10,2 menit.

**Prosedur** Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10 µl) ke dalam kromatograf dan rekam kromatogram. Hitung persentase  $C_3H_8O_2$  dalam propilen glikol, dengan membagi luas puncak, kecuali puncak udara dan air dan kalikan 100.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## PROPILIODON

### Propyliodone



*Propil 3,5-diiodo-4-okso-1(4H)-piridinsetat* [587-61-1]

$C_{10}H_{11}I_2NO_3$

BM 447,01

Propyliodone mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{10}H_{11}I_2NO_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau hampir putih; tidak berbau atau berbau lemah.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; larut dalam aseton, dalam etanol dan dalam eter.

### Identifikasi

A. Panaskan 100 mg zat dengan beberapa tetes *asam sulfat P*: terbentuk uap berwarna lembayung.

B. Refluks 1 g zat dengan 10 ml *natrium hidroksida 1 N* selama 30 menit, tambahkan 10 ml air, tambahkan *asam klorida P* sampai bereaksi asam terhadap *kertas lakmus P*, terbentuk endapan asam 3,5-diiodo-4-okso-1(4H)-piridinsetat, cuci dengan air dan keringkan pada suhu 105°: suhu lebur lebih kurang 245°.

**Keasaman** Larutkan 1,0 g zat dalam 40 ml *n-propanol P* panas yang telah dinetralkan terhadap *fenolftalein LP*, dinginkan, diamkan dalam tangas es selama 15 menit sambil sesekali dikocok. Saring, cuci sisa dengan *n-propanol P* netral. Kumpulkan filtrat dan hasil cucian, tambahkan indikator *fenolftalein LP*. Titrasi dengan *natrium hidroksida 0,050 N LV* sampai warna merah muda yang mantap selama 15 detik: diperlukan tidak lebih dari 0,15 ml.

**Jarak lebur** <1021> Antara 187° dan 190°.

**Iodum dan Iodida** Tidak lebih dari 0,01% I, lakukan penetapan sebagai berikut: Kocok 2,4 g zat dengan 30 ml air selama 15 menit, saring. Pada 10 ml filtrat tambahkan 1 ml *asam nitrat 2 N*, 1 ml larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 500) dan 2 ml *kloroform P*. Kocok dan sentrifus: warna ungu pada lapisan kloroform tidak lebih kuat dari warna campuran 6 ml air dan 4 ml larutan *kalium iodida P* (2,6 dalam 100.000) yang diperlakukan dengan cara yang sama.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° hingga bobot tetap.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 15 mg zat, lakukan persiapan penetapan seperti tertera pada *Pembakaran dengan Labu Oksigen <501>* menggunakan campuran 10 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 100) dan 1 ml larutan segar *natrium bisulfit P* (1 dalam 100) sebagai cairan penjerap. Jika pembakaran selesai, tambahkan beberapa ml air sekitar sumbat labu, longgarkan sumbat, kemudian bilas sumbat, pemegang contoh dan sisi labu dengan lebih kurang 20 ml air, tambahkan sedikit-sedikit. Tambahkan 1 ml larutan pengoksidasi yang dibuat dengan menambahkan 5 ml *brom P* pada 100 ml larutan *natrium asetat P* dalam *asam asetat glasial P* (1 dalam 10). Sumbat labu, kocok kuat selama 1 menit. Tambahkan 0,5 ml *asam format P*, kocok kuat selama 1 menit. Buka sumbat dan bilas sumbat, pemegang contoh dan sisi labu dengan sejumlah kecil air. Alirkan gas *nitrogen P* ke dalam labu untuk mengusir oksigen dan sisa brom, tambahkan 500 mg *kalsium iodida P*, goyang sampai melarut, tambahkan 3 ml *asam sulfat 2 N*, goyang dan biarkan selama 2 menit. Titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,02 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir.

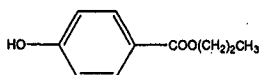
Tiap ml *natrium tiosulfat 0,02 N*  
setara dengan 0,7450 mg  $C_{10}H_{11}I_2NO_3$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## PROPILPARABEN

Nipasol

Propylparaben



*Propil p-hidroksibenzoat* [94-13-1]

$C_{10}H_{12}O_3$

BM 180,20

Propylparaben mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{10}H_{12}O_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk atau hablur kecil; tidak berwarna.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; sukar larut dalam air mendidih; mudah larut dalam etanol dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Propilparaben BPF1*; tidak boleh dikeringkan, Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Etilparaben BPF1*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 5 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*,

menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Propilparaben BPF1*.

**Jarak lebur <1021>** Antara 96° dan 99°.

**Warna larutan** Timbang 1 g zat, larutkan dalam 10 ml *etanol P* (*Larutan propel paraben*). Larutan jernih dan warna tidak lebih intensif dari *etanol P* atau larutan yang baru dibuat dengan mencampur 2,4 ml *larutan besi(III) klorida LK*, 1,0 ml *tembaga(II) sulfat LK* dengan *asam klorida 0,3 N* hingga 10 ml, dan encerkan 5 ml larutan ini dengan *asam klorida 0,3 N* sampai 100 ml. Bandingkan warna dengan mengamati dari atas menggunakan tabung yang sama terhadap latar belakang putih seperti tertera pada *Warna dan akromisitas <1291>*.

**Keasaman** Pada 2 ml *Larutan propilparaben* tambahkan 3 ml *etanol P*; 5 ml air bebas karbon dioksida; 0,1 ml *bromokresol hijau LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N*; tidak lebih dari 0,1 ml diperlukan untuk menghasilkan warna biru.

**Sisa pemijaran <1111>** Tidak lebih dari 0,1%, lakukan penetapan menggunakan 1,0 g zat.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti yang tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *methanol P-air-asam asetat glacial P* (70:30:1).

*Penjerap* Campuran *silika gel P* setebal 0,25 mm.

*Larutan baku 1* Pipet 0,5 ml *Larutan uji* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *aseton P* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Timbang saksama 10 mg *Etilparaben BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dalam 1 ml *Larutan uji*. Encerkan dengan *aseton P* sampai tanda.

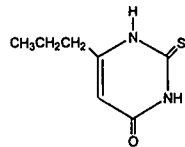
*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 2  $\mu$ l *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2*, *Larutan uji* pada lempeng kromatografi. Masukkan lempeng pada bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* yang telah dijenuhkan. Biarkan *Fase gerak* merambat sampai tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering. Amati lempeng di bawah sinar UV 245 nm dan bandingkan intensitas bercak sekunder pada kromatografi *Larutan uji* dengan bercak utama kromatogram *Larutan baku 1*: intensitas bercak sekunder pada kromatogram *Larutan uji* tidak lebih besar dari bercak utama kromatogram *Larutan baku 1* (0,5%). Uji tidak abash kecuali kromatogram *Larutan baku 2* menunjukkan dua bercak utama yang jelas terpisah.

**Penetapan kadar** Timbang saksama 1 g zat, masukkan ke dalam labu bersumbat kaca. Tambahkan 20,0 ml *natrium hidroksida 1 N LV* dan panaskan pada 70° selama 1 jam. Dinginkan pada tangas es. Titrasi kelebihan natrium hidroksida dengan *asam sulfat 1 N LV*, lanjutkan titrasi sampai titik kedua infleksi dan tentukan titik akhir secara potensiometri. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml natrium hidroksida 1 N  
setara dengan 180,2 mg  $C_{10}H_{12}O_3$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik.

### PROPILTIOURASIL Propylthiouracil



4(1H)-Pirimidinon, 2,3-dihidro-6-propil-2-tiokso-  
6-Propil-2-tiourasil [51-52-5]  
 $C_7H_{10}N_2OS$

BM 170,23

Propiltiourasil mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_7H_{10}N_2OS$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Hablur atau serbuk hablur; putih; rasa pahit.

Kelarutan Sukar larut dalam air, dalam kloroform dan dalam eter; agak sukar larut dalam etanol; larut dalam amonium hidroksida dan dalam alkali hidroksida.

Baku pembeding *Propiltiourasil BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

Identifikasi Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kaltum bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Propiltiourasil BPFi*.

Jarak lebur <1021> Antara 218° dan 221°.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Selenium <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg zat.

Logam berat <371> Metode III tidak lebih dari 20 bpj.

Cemaran umum <481>

Larutan uji metanol P.

Larutan baku metanol P.

Volume penotolan 10 µl.

Fase gerak Buat campuran toluen P-etil asetat P-asam format P (50:45:5) dalam bejana yang tidak dijenuhkan.

Penampak bercak Gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

Penetapan kadar Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 500 ml dan tambahkan 30 ml air. Tambahkan lebih kurang 30 ml natrium hidroksida 0,1 N LV dari buret, panaskan hingga mendidih dan kocok hingga larut. Bilas labu Erlenmeyer dengan sejumlah air, tambahkan lebih kurang 50 ml perak nitrat 0,1 N LV sambil diaduk, didihkan perlahan-lahan selama 7 menit, dinginkan hingga suhu ruang. Lanjutkan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV dan tetapkan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan elektrode kaca kalomel.

Tiap ml natrium hidroksida 0,1 N  
setara dengan 8,512 mg  $C_7H_{10}N_2OS$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

### TABLET PROPILTIOURASIL Propylthiouracil Tablet

Tablet Propiltiourasil mengandung Propiltiourasil,  $C_7H_{10}N_2OS$ , tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Baku pembeding *Propiltiourasil BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Refluks sejumlah tablet setara dengan lebih kurang 100 mg propiltiourasil dengan 10 ml etanol P selama 20 menit. Saring selagi panas, uapkan filtrat di atas tangas uap sampai kering; residu memenuhi reaksi *Identifikasi* seperti tertera pada *Propiltiourasil*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan kromatogram Larutan baku seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

#### Disolusi <1231>

Media disolusi: 900 ml air.

Alat tipe1 : 100 rpm.

Waktu: 30 menit.

Prosedur Lakukan penetapan jumlah  $C_7H_{10}N_2OS$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi*, bandingkan dengan serapan larutan baku *Propiltiourasil BPFi* dalam media yang sama pada bilangan gelombang maksimum lebih kurang 274 nm.

Toleransi Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 85%  $C_7H_{10}N_2OS$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan dapar fosfat 0,025 M* Timbang saksama 3,40 g kalium fosfat monobasa P, masukkan ke dalam gelas piala 1000 ml. Tambahkan 500 ml air, aduk sampai larut. Atur pH larutan hingga 4,6 dengan menambahkan asam fosfat P atau natrium hidroksida 0,1 N. Tambahkan 500 ml air.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan dapar fosfat 0,025 M-asetonitril P (80:20)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 25 mg Propiltiourasil BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5 ml metanol P, dan sonikasi selama 5 menit. Tambahkan 25 ml air, kocok selama 15 menit dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda, kadar lebih kurang 50 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan 50 mg propiltiourasil, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml metanol P, dan sonikasi selama 5 menit. Tambahkan 50 ml air, kocok selama 20 menit dan encerkan dengan air sampai tanda, campur dan saring. Pipet 10 ml filtrat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. *Kromatografi cair kinerja tinggi* dilengkapi dengan detektor 272 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 3500 lempeng teoritis, faktor ikutan, *T*, untuk puncak propiltiourasil tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

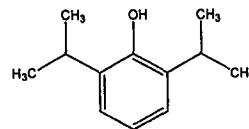
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg propiltiourasil, C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Propiltiourasil BPF1 dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## PROPOFOL Propofol



2,6-Diisopropilfenol [2078-54-8]  
C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O

BM 178,27

Propofol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O.

**Pemerian** Cairan jernih, tidak berwarna sampai agak kekuningan.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam metanol dan dalam etanol; sukar larut dalam sikloheksan dan dalam isopropanol; sangat sukar larut dalam air.

**Baku pembanding** *Propofol BPF1*; Tidak boleh dikeringkan. Setelah dibuka disimpan dalam wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya, dialiri gas inert. *Senyawa Sejenis A Propofol BPF1 [3,3'-5,5' tetraisopropildifenol]*; Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam lemari pendingin dan terlindung cahaya. *Senyawa Sejenis B Propofol BPF1 [2,6-diisopropil benzokuinon]*; Tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin dalam wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya, dialiri gas inert. *Senyawa Sejenis C Propofol BPF1 [2,6-diisopropilfenilisopropil eter]*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin dan terlindung cahaya. *Campuran Resolusi Propofol BPF1 [Propofol dan 2-isopropil-6-n-propilfenol.]*

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang disuspensikan diantara lempeng natrium klorida P atau kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Propofol BPF1*.

**Indeks bias <1001>** Antara 1,5125 dan 1,5145; lakukan penetapan pada suhu 20°.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Tergantung pada proses pembuatan, (1) Uji 1 senyawa sejenis dilakukan bersamaan dengan Batas senyawa sejenis A propofol, Uji 1 batas senyawa sejenis B propofol dan prosedur uji 1 penetapan kadar; atau (2) Uji 2 senyawa sejenis dilakukan bersamaan dengan Uji 2 batas senyawa sejenis B propofol dan prosedur Uji 2 penetapan kadar]

**UJI 1** 2,6-Diisopropilfenilisopropil eter tidak lebih dari 0,1%; masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,1%; dan jumlah seluruh cemaran tidak lebih dari 0,3%.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Campuran Resolusi Propofol BPF1*, larutkan dalam *metanol P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 100 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Propofol BPF1*, larutkan dalam *metanol P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 1000 mg zat, masukkan dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dalam *metanol P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Uji 1* dalam *Penetapan kadar*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*: waktu retensi relatif 2,6-diisopropilfenilisopropil eter, propofol dan 2-isopropil-6-n-propilfenol berturut-turut adalah lebih kurang 0,18;1,0 dan 1,1; resolusi, *R*, antara puncak propofol dan 2-isopropil-6-n-propilfenol, tidak kurang dari 2. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom ditentukan dari puncak propofol tidak kurang dari 5000 lempeng teoritis; dan simpangan baku relatif pada enam kali penyuntikan tidak lebih dari 3,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1,0 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$0,1 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak propofol dari *Larutan baku*.

*UJI 2* 2,6-Diisopropilfenilisopropil eter tidak lebih dari 0,2%; senyawa sejenis A propofol tidak lebih dari 0,01%; masing masing cemaran tidak lebih dari 0,05%; dan jumlah seluruh cemaran tidak lebih dari 0,3%.

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Uji 2* dalam *Penetapan kadar*.

*Larutan kesesuaian sistem 1* Pipet 5 µl *Propofol BPF1* dan 15 µl *Senyawa Sejenis B Propofol BPF1* ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem 2* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A Propofol BPF1*, pipet saksama sejumlah volume zat dan *Senyawa Sejenis C Propofol BPF1*, larutkan dalam *heksan P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *heksan P* hingga kadar senyawa sejenis A propofol, propofol, senyawa sejenis C propofol berturut-turut lebih kurang 0,25 mg per ml; 100 µl per ml dan 5 µl per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 1000 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 1 ml *Larutan uji* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *heksan P* sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Uji 2* dalam *Penetapan kadar*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem 1* dan *Larutan kesesuaian sistem 2*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis B propofol, 2,6-diisopropilfenilisopropil eter, propofol dan senyawa sejenis A propofol berturut turut lebih kurang 0,8;0,5; 1,0 dan 5,0; dan resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis B propofol dan propofol, tidak kurang dari 4,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$0,1 \left( \frac{r_i}{r_s} \right) \left( \frac{1}{F} \right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji*; *r<sub>s</sub>* respons puncak propofol dari *Larutan baku*; *F* adalah faktor respons (*F* untuk 2,6-diisopropilfenilisopropil eter = 0,2 dan untuk senyawa sejenis A propofol = 4,0):

**Senyawa sejenis A propofol** Tidak lebih dari 0,1%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [*Catatan Uji ini dilakukan bersamaan dengan Uji 1 Senyawa sejenis*]

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P-air-metanol P* (50:40:10), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A Propofol BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 20 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 270 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom didasarkan pada puncak senyawa sejenis A propofol, tidak kurang dari 6000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada enam kali penyuntikan tidak lebih dari 15%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak senyawa sejenis A propofol. Hitung

persentase senyawa sejenis A propofol dalam zat dengan rumus:

$$0,01 \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis A propofol dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

### Senyawa sejenis B propofol

**UJI 1** [Catatan Dilakukan bersamaan dengan Uji 1 Senyawa sejenis]

*Larutan uji* Gunakan zat murni.

*Prosedur* Ukur serapan ultraviolet propofol dalam *Larutan uji* pada 330 nm menggunakan udara sebagai blangko: serapan *Larutan uji* tidak lebih dari 0,4 unit serapan (0,1%).

**UJI 2** Tidak lebih dari 0,05 %. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Dilakukan bersamaan dengan Uji 2 senyawa sejenis]

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada Uji 2 dalam *Penetapan kadar*.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 5 mg *Senyawa Sejenis B Propofol BPF1* masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Larutan baku Pipet* 5 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam labu tentukur 100-ml encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 500mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi<931>*.Lakukan seperti tertera pada Uji 2 *Penetapan kadar* kecuali gunakan detektor pada 254 nm. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan *Larutan uji*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis B propofol dan propofol berturut turut lebih kurang 0,8 dan 1,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak senyawa sejenis B propofol. Hitung persentase senyawa sejenis B propofol dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_S}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_S$  dan  $C_U$  berturut turut adalah kadar propofol dalam mg per ml *Larutan baku* dan *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis B propofol dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

### Penetapan kadar

**UJI 1** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Dilakukan bersamaan dengan Uji 1 Senyawa sejenis.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Propofol BPF1*, larutkan dalam *metanol P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom 30 m x 0,53 mm dilapisi dengan *G16* setebal 1,2 µm. Gas pembawa *helium P*, laju alir lebih kurang 8 ml per menit. Pertahankan suhu injektor dan detektor berturut-turut lebih kurang 250° dan 300°. Kromatograf diprogram sebagai berikut: setelah penyuntikan suhu kolom dipertahankan pada 145° selama 20 menit. Suhu dinaikkan dengan kecepatan 5° per menit hingga mencapai 200° dan dipertahankan pada 200° selama 5 menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom ditentukan dari puncak propofol tidak kurang dari 5000 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 2,5; dan simpangan baku relatif pada lima kali penyuntikan tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1,0 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase propofol,  $C_{12}H_{18}O$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_S}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_S$  adalah kadar *Propofol BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  kadar propofol dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**UJI 2** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Dilakukan bersamaan dengan Uji 2 Senyawa sejenis.]

*Fase gerak* Buat campuran *heksan P-asetonitril P-etanol P* (990:7,5:1), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Propofol BPF1*, larutkan dalam *heksan P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *heksan P* hingga kadar lebih kurang 2,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 240 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *heksan P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi



dilengkapi dengan detektor 275 nm dan kolom 20 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi L3 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur. faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak propofol. Hitung persentase propofol, C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O, dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar Propofol BPFi dalam mg per ml Larutan baku; C<sub>u</sub> kadar propofol dalam mg per ml Larutan uji; r<sub>u</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat berisi gas inert dan terlindung cahaya. Simpan pada suhu ruang.

**Penandaan** Pada etiket harus dicantumkan uji senyawa sejenis yang digunakan jika tidak menggunakan Uji 1.

**PROTAMIN SULFAT**  
**Protamine Sulfate**

Protamin Sulfat adalah campuran yang dimurnikan dari peptida sederhana, dihasilkan dari sperma atau testis ikan yang sesuai, mempunyai kekuatan menetralkan heparin. Tiap mg protamin sulfat dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, dapat menetralkan tidak kurang dari 100 unit Heparin FI.

**Baku pembanding** Heparin Natrium BPFi; simpan di tempat dingin, tidak boleh dibekukan.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sulfat** <361> Tidak kurang dari 16% dan tidak lebih dari 22%, dihitung terhadap zat yang dikeringkan; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 150 mg zat, masukkan ke dalam tabung, larutkan dalam 75 ml air, tambahkan 5 ml asam klorida 3 N, panaskan hingga mendidih. Dalam keadaan mendidih tambahkan perlahan-lahan 10 ml barium klorida LP, tutup dan panaskan tabung di atas tangas uap selama 1 jam. Saring, cuci endapan dengan beberapa bagian air panas, keringkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Bobot barium sulfat dikalikan dengan 0,4117 menunjukkan bobot sulfat yang terdapat dalam protamin sulfat yang diuji.

**Kandungan nitrogen** Tidak kurang dari 22,5% dan tidak lebih dari 25,5% N, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan seperti tertera pada Penetapan Kadar Nitrogen <581> Metode II.

**Penetapan kadar**

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah zat uji, larutkan dalam Air untuk Injeksi hingga diperoleh larutan dengan kadar 1 mg per ml, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Penyiapan plasma** Buat menurut Penyiapan plasma seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Heparin Natrium.

**Larutan heparin** Pada hari penetapan kadar buat larutan Heparin Natrium BPFi dalam larutan natrium klorida P 0,9% hingga kadar 115 unit Heparin FI per ml.

**Larutan kalsium tromboplastin** Larutkan sejumlah tromboplastin dalam larutan kalsium klorida P (1 dalam 50), jika perlu lakukan uji pendahuluan, hingga diperoleh waktu jendal lebih kurang 35 detik dalam campuran volume sama banyak plasma dengan campuran larutan natrium klorida P 0,9%-Larutan kalsium tromboplastin (4:1).

**Prosedur** Ke dalam 10 tabung reaksi ukuran 100 mm x 13 mm yang telah dicuci sangat bersih, pipet masing-masing 2,5 ml Plasma. Masukkan tabung ke dalam tangas air pada suhu 37°±0,2° dan pada 9 tabung, tambahkan masing-masing 0,5 ml Larutan uji. Pipet 2 ml larutan natrium klorida P 0,9% dan 0,5 ml Larutan kalsium tromboplastin ke dalam tabung kesepuluh, sebagai kontrol. Catat waktu penambahan Larutan kalsium tromboplastin tersebut sampai ketelitian detik. Pada waktu pencampuran menggunakan kawat sengkeli, catat waktu yang pertama timbul benang-benang fibrin sampai ketelitian detik. Waktu ini adalah waktu jendal normal plasma. Ke dalam 9 tabung pipet sejumlah Larutan heparin berturut-turut 0,43 ml; 0,45 ml; 0,47 ml; 0,49 ml; 0,50 ml; 0,51 ml; 0,53 ml; 0,55 ml dan 0,57 ml. Ke dalam tiap tabung tambahkan larutan natrium klorida P 0,9% hingga 4,5 ml. Ambil tabung, tambahkan 0,5 ml Larutan kalsium tromboplastin dan catat waktu jendal tiap tabung dengan cara sama seperti pada tabung kontrol.

**Perhitungan** Hitung jumlah unit Heparin FI yang ternetralkan per mg, dengan rumus:

$$\left( \frac{N_s}{W_u} \right)$$

N<sub>s</sub> adalah unit Heparin FI pada tabung terakhir sebelum tabung yang menunjukkan waktu jendal tidak kurang dari 2 detik lebih lama dibanding waktu jendal tabung kontrol; W<sub>u</sub> adalah jumlah mg protamin sulfat pada tabung terakhir sebelum tabung yang menunjukkan waktu jendal tidak kurang dari 2 detik lebih lama dibanding waktu jendal tabung kontrol.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat; simpan dalam lemari pendingin.

### INJEKSI PROTAMIN SULFAT Protamine Sulfate Injection

Injeksi Protamin Sulfat adalah larutan steril protamin sulfat isotonik. Mengandung Protamin Sulfat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Pemerian Larutan** tidak berwarna, bau pengawet.

**Baku pembanding** *Heparin Natrium BPFi*; simpan di tempat dingin, tidak boleh dibekukan. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Menunjukkan reaksi *Sulfat* cara *A, B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Endotoksin bakteri <201>** Mengandung tidak lebih dari 7,0 unit *Protamin Sulfat Endotoksin BPFi* per mg.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Protamin Sulfat*, menggunakan *Larutan uji* yang dibuat sebagai berikut: pipet sejumlah volume injeksi, encerkan dengan *Air untuk Injeksi* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Hitung potensi, dalam mg protamin sulfat, per ml injeksi dengan rumus:

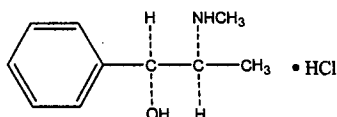
$$\left(\frac{v}{V}\right)$$

*v* dan *V* berturut-turut adalah volume dalam ml *Larutan heparin* dan injeksi yang terdapat pada tabung terakhir sebelum tabung dengan waktu jendal tidak kurang dari 2 detik lebih lama dari waktu jendal tabung kontrol.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda sebaiknya dari kaca Tipe I. Simpan pada suhu ruang terkendali.

**Penandaan** Beri penandaan untuk menunjukkan perkiraan kapasitas netralisasi dalam Unit Heparin FI.

### PSEUDOEFEDRIN HIDROKLORIDA Pseudoephedrine Hydrochloride



(+)-*Pseudoefedrin hidroklorida* [345-78-8]  
C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO.HCl

BM 201,70

*Pseudoefedrin Hidroklorida* mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO.HCl, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur putih atau serbuk putih, serbuk halus putih atau hampir putih; bau khas lemah.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam etanol; agak sukar larut dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Pseudoefedrin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Efedrin Sulfat BPFi*.

#### Identifikasi

**A** Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang sama seperti pada *Pseudoefedrin Hidroklorida BPFi*.

**B** Menunjukkan reaksi *Klorida* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*

**Jarak lebur <1021>** *Metode I* Antara 182° dan 186°; rentang antara awal dan akhir peleburan tidak lebih dari 2°.

**Rotasi jenis <1081>** Antara +61,0° dan +62,5°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 500 mg zat per 10 ml.

**pH <1071>** Antara 4,6 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan zat (1 dalam 20).

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Kemurnian kromatografi** Total cemaran tidak lebih dari 2,0%. Lakukan seperti pada *Penetapan kadar*. Hitung persentase setiap cemaran dalam *Pseudoefedrin Hidroklorida* yang digunakan dengan rumus:

$$100\left(\frac{r_i}{r_s}\right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran; dan *r<sub>s</sub>* adalah jumlah semua respons puncak dalam kromatogram.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

Larutan trietilamin-asam fosfat Campur 5 ml trietilamin P dengan 1000 ml air. Atur pH hingga 6,8 dengan penambahan asam fosfat P.

Fase gerak Buat campuran Larutan trietilamin-asam fosfat dan metanol P (90:10), saring dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan kesesuaian sistem Timbang saksama Pseudoefedrin Hidroklorida BPFi dan Efedrin Sulfat BPFi, larutkan dalam air hingga diperoleh kadar berturut-turut 0,1 mg dan 0,002 mg per ml.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Pseudoefedrin Hidroklorida BPFi, larutkan dalam air sehingga diperoleh kadar 0,1 mg per ml.

Larutan uji Timbang saksama 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan secara kuantitatif dan bila perlu bertahap hingga diperoleh kadar akhir 0,1 mg per ml.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 206 nm dan kolom 15 cm x 3,0 mm berisi bahan pengisi L11. Laju alir lebih kurang 0,6 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem dan rekam kromatogram dan ukur retensi relatif efedrin dan pseudoefedrin berturut-turut adalah lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak efedrin dan pseudoefedrin tidak kurang dari 2,0; faktor ikutan puncak pseudoefedrin tidak lebih dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

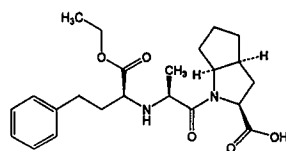
Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO.HCl, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> dan C<sub>u</sub> berturut turut adalah kadar pseudoefedrin hidroklorida dalam Larutan baku dan Larutan uji dalam mg per ml; r<sub>u</sub> dan r<sub>s</sub> berturut turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### RAMIPRIL Ramipril



(2S,3aS,6aS)-1-[(S)-N-[(S)-1-karboksi-3-fenilpropil]alanil]oktahidrosiklopenta[b]pirol-2-asam karboksilat,1-etilester [87333-19-5]  
C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> BM 416,5

Ramipril mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Serbuk hablur putih atau hampir putih.

Kelarutan Agak sukar larut dalam air; mudah larut dalam metanol.

Baku pembanding Ramipril BPFi, Cemaran A Ramipril BPFi, [(2S,3aS,6aS)-1-[(S)2-[[[(S)1-(metoksikarbonil)-3-fenilpropil]amino]-1-oksopropil]-oktahidrosiklopenta [b]pirol-2-asam karboksilat] (C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> BM 402,48) tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya, dalam lemari pendingin. Cemaran B Ramipril BPFi, [(2S,3aS,6aS)-1-[(S)2-[[[(S)1-(metiletoksi)karbonil-3-fenilpropil]amino]-1-oksopropil]-oktahidrosiklopenta [b]pirol-2-asam karboksilat] (C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> BM 430,54), tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. Cemaran C Ramipril BPFi, [(2S,3aS,6aS)-1-[(S)2-[[[(S)1-etoksikarbonil-3-sikloheksilpropil]amino]-1-oksopropil]-oktahidrosiklopenta[b]pirol-2-asam karboksilat] (C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> BM 422,56) tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat. Cemaran D Ramipril BPFi, [etil(2S)2-[(3S,5aS,8aS,9aS)-3-metil-1,4-dioksodekahidro-1H-siklopenta[e]pirolo[1,2-a]pirasin-2-il]-4-fenil-butanoat.] Ramipril diketopiperazin (C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> BM 398,50) tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Ramipril BPFi.

Rotasi jenis <1081> Antara +32,0° dan +38,0° dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan 10 mg per ml larutan zat dalam metanol asam klorida 0,1 M pada suhu 20°.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,2%; lakukan pengeringan dengan tekanan 5 mmHg pada 60° selama 6 jam menggunakan 1 g zat.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1,0 g zat.

Paladium Tidak lebih dari 20 bpj. Lakukan penetapan secara Spektrofotometri serapan seperti tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan cahaya <1191>.

Pengencer Buat campuran asam nitrat P-air (3:997).

*Larutan blangko* Timbang lebih kurang 150 mg magnesium nitrat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 50 mg logam paladium, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 9 ml *asam klorida P* dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan baku* Encerkan *Larutan baku persediaan* secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer* hingga diperoleh larutan dengan kadar 0,02; 0,03 dan 0,05 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Prosedur* Tetapkan sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, pada emisi paladium 247,6 nm, menggunakan spektrofotometri serapan seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan cahaya <1191>*. Spektrofotometer dilengkapi dengan lampu "hollow catode" paladium. Gunakan *Larutan blangko*. Buat kurva serapan *Larutan baku* terhadap kadar dalam µg per ml. Dari kurva yang diperoleh tetapkan kadar paladium,  $C_p$  dalam µg per ml. Hitung persentase paladium dalam zat dengan rumus:

$$0,1 \left( \frac{C_p}{C_R} \right)$$

$C_R$  adalah kadar ramipril dalam mg per ml *Larutan uji*.

**Senyawa sejenis** Masing-masing senyawa sejenis tidak lebih dari 0,5%; cemaran lain tidak lebih dari 0,1%; jumlah cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan A* Timbang lebih kurang 2 g *natrium perklorat P*, larutkan dalam campuran 0,5 ml *trietilamin P* dan 800 ml air; atur pH hingga 3,6±0,1 dengan penambahan *asam fosfat P*. Tambahkan 200 ml *asetonitril P*.

*Larutan B* Timbang lebih kurang 2 g *natrium perklorat P*, larutkan dalam campuran 0,5 ml *trietilamin P* dan 300 ml air; atur pH hingga 2,6 ± 0,1 dengan penambahan *asam fosfat P*. Tambahkan 700 ml *asetonitril P*.

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* yang telah disaring dan diawaudarakan seperti tertera pada *Sistem kromatografi*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ramipril BPF1*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Larutan B* hingga kadar lebih kurang 5 µg per ml.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Ramipril BPF1*, *Senyawa Sejenis A Ramipril BPF1*, *Senyawa Sejenis B Ramipril BPF1*, *Senyawa Sejenis C Ramipril BPF1* dan *Senyawa Sejenis D Ramipril BPF1*, larutkan dan encerkan dengan *Larutan B* hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. [*Catatan Larutan uji dipertahankan dalam keadaan dingin sampai saat disuntikkan.*]

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 25 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3 µm. Pertahankan suhu kolom pada 65°. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-6	90	10	isokratik
6-7	90→75	10→25	gradien linier
7-20	75→65	25→35	gradien linier
20-30	65→25	35→75	gradien linier
30-40	25	75	isokratik
40-45	25→90	75→10	gradien linier
45-55	90	10	kesetimbangan kembali

[*Catatan* Jika perlu, atur perbandingan (75:25) untuk memperoleh eluasi ramipril antara 16 dan 19 menit setelah penyuntikan *Larutan baku*.]

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak senyawa sejenis A ramipril dan puncak ramipril tidak kurang dari 3,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan uji* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi ramipril antara 16 dan 19 menit; faktor ikutan puncak ramipril antara 0,8 dan 2,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%. [*Catatan Waktu retensi relatif senyawa sejenis A ramipril, ramipril, senyawa sejenis B ramipril, senyawa sejenis C ramipril dan senyawa sejenis D ramipril berturut-turut lebih kurang 0,8; 1,0; 1,3; 1,5; dan 1,6.*]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak ramipril dalam *Larutan baku* dan semua respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji*. Hitung persentase masing-masing senyawa sejenis dan cemaran yang tidak diketahui dengan rumus:

$$100F \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$F$  adalah faktor respons relatif untuk senyawa sejenis; 2,4 untuk senyawa sejenis C ramipril dan 1,0 untuk cemaran lainnya;  $C_s$  adalah kadar *Ramipril BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar ramipril dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing

cemaran dalam *Larutan uji*;  $r_s$  adalah respons puncak ramipril dalam *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan natrium dodesil sulfat* Buat larutan natrium dodesil sulfat 0,1%, atur pH hingga  $2,4 \pm 0,1$  dengan penambahan *asam fosfat P*, saring dan awaudarakan.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan natrium dodesil sulfat-asetonitril P* (55:45). Atur pH hingga  $2,75 \pm 0,1$  dengan penambahan *asam fosfat P*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ramipril BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Ramipril BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Ramipril BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,2 mg per ml dan 0,01 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dengan 10 ml *asetonitril P*. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*, laju alir lebih kurang 1,8 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak ramipril dan puncak senyawa sejenis A ramipril tidak kurang dari 2,0; efisiensi kolom ditentukan dari puncak ramipril tidak kurang dari 4000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam mg ramipril,  $C_{23}H_{32}N_2O_5$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$500C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Ramipril BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## RANITIDIN HIDROKLORIDA

### Ranitidine Hydrochloride

*N*-[2-[[[5-[(*Dimetilamino*)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-*N'*-metil-2-nitro-1,1-etenadiamina, hidroklorida  
[66357-59-3]

$C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$

BM 350,87

Ranitidin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 97,5 % dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai kuning pucat; praktis tidak berbau; peka terhadap cahaya dan kelembaban. Melebur pada suhu lebih kurang  $140^\circ$  disertai peruraian.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Ranitidin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat. *Senyawa Sejenis A Ranitidin BPFi* [5-[[[(2-aminoetil)metil]-*N,N*-dimetil-2-furanmetanamina,garam hemifumarat]; simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Senyawa Sejenis B Ranitidin BPFi* [ *N,N'*-Bis[2-[[[5-[(*dimetilamino*)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-2-nitro-1,1-etendiamina]; simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Senyawa Sejenis C Ranitidin BPFi* [*N*-[2-[[[5-[(*Dimetilamino*)metil]-2-furanil]metil]sulfinil]etil]-*N*-metil-2-nitro-1,1-etendiamina]; simpan dalam wadah tidak tembus cahaya dan ditempat sejuk. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Ranitidin Hidroklorida BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet (1 dalam 100.000), menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Ranitidin Hidroklorida BPFi*; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 229 nm dan 315 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 100).

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,75%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Senyawa organik mudah menguap <471> Metode IV Memenuhi syarat.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran etilasetat *P-isopropil alkohol P-amonium hidroksida P-air* (25:15:5:1).

*Penjerap* Campuran silika gel *P* setebal 0,25 mm.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam metanol *P* hingga kadar 22,3 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Ranitidin Hidroklorida *BPFI* larutkan dalam metanol *P* hingga kadar 0,22 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Buat pengenceran *Larutan baku* dalam metanol *P* masing-masing hingga kadar 110 µg (*Enceran larutan baku A*); 66 µg (*Enceran larutan baku B*); dan 11 µg (*Enceran larutan baku C*) per ml.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A* Ranitidin *BPFI* [5-[[[(2-aminoetil)tio]metil]-*N,N*-dimetil-2-furanmetanamina, garam hemifumarat] dalam metanol *P* hingga kadar 1,27 mg per ml.

*Larutan identifikasi* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis B* Ranitidin *BPFI* [*N,N'*-Bis[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-2-nitro-1,1-etendiamina] dalam metanol *P* hingga kadar 1 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji*, *Larutan baku*, *Enceran larutan baku* dan *Larutan identifikasi* pada lempeng kromatografi. Totolkan terpisah 10 µl *Larutan uji* dan tambahkan 10 µl *Larutan resolusi* di atas tolotan tersebut. Biarkan tolotan kering dan masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak* biarkan merambat hingga tidak kurang dari 15 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan *Fase gerak* menguap. Paparkan uap iodum hingga bercak tampak. Amati lempeng, bandingkan intensitas tiap bercak *Larutan uji* dengan bercak utama *Larutan baku*; *Enceran larutan baku A*, *B* dan *C*; dan *Larutan identifikasi*. Persyaratan kesesuaian sistem dipenuhi jika terjadi pemisahan sempurna antara bercak utama pada kromatogram campuran *Larutan uji* dan *Larutan resolusi* dan jika terlihat bercak dari *Enceran larutan baku C*. Jika bercak *Larutan uji* pada nilai  $R_f$  yang sama dengan bercak utama *Larutan identifikasi*, yang tidak lebih besar ukuran dan intensitasnya dari bercak utama *Enceran larutan baku A*, maka tidak lebih besar 0,5%. Tidak ada bercak lain dari *Larutan uji* yang mempunyai ukuran dan intensitas lebih besar dari bercak *Enceran larutan baku B* (0,35). Jumlah intensitas semua bercak lain *Larutan uji* menunjukkan tidak lebih dari 1,0%.

**Penetapan kadar** [Catatan Gunakan luas puncak jika dinyatakan respons puncak.] Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran metanol *P*-amonium asetat *P* 0,1 M (70:30), saring dan awaudarakan. Jika perlu

lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Ranitidin Hidroklorida *BPFI*, larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan bertahap dengan *Fase gerak*, hingga kadar lebih kurang 0,112 mg (setara dengan 0,100 mg ranitidin basa) per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah Ranitidin Hidroklorida *BPFI* dan *Senyawa Sejenis C* Ranitidin *BPFI*, larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,112 mg per ml dan 0,01 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 112 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Masukkan 1,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 322 nm dan kolom 20 cm x 4,6 mm sampai 30 cm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam luas puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak ranitidin hidroklorida dan *Senyawa Sejenis C* *BPFI* [*N,N'*-Bis[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-2-nitro-1,1-etendiamina] (*senyawa sejenis C* ranitidin), tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak ranitidin hidroklorida tidak lebih dari 2,0; jumlah lempeng teoritis ditentukan dari puncak ranitidin hidroklorida tidak kurang 700 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih 2%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur luas puncak utama. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$ , dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Ranitidin Hidroklorida *BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah luas puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## TABLET RANITIDIN HIDROKLORIDA Ranitidine Hydrochloride Tablet

Tablet Ranitidin Hidroklorida mengandung Ranitidin Hidroklorida,  $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$ , setara dengan ranitidin,  $C_{13}H_{22}N_4O_3S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Ranitidin Hidroklorida BPF1;** lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60°, selama 3 jam sebelum digunakan. *Senyawa Sejenis A Ranitidin BPF1;* simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Senyawa Sejenis C Ranitidin BPF1;* simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sama dengan harga  $R_f$  bercak utama *Larutan baku* seperti tertera pada *Kemurnian kromatografi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sama dengan puncak utama *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

C. Kocok sejumlah serbuk tablet setara lebih kurang 100 mg ranitidin dengan 2 ml air dan saring: filtrat menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

#### Disolusi<1231>

*Media disolusi:* 900 ml air.

*Alat tipe 2:* 50 rpm.

*Waktu:* 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ , yang terlarut dengan mengukur alikuot, jika perlu encerkan dengan air dan serapan larutan baku *Ranitidin Hidroklorida BPF1* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 314 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan<911>** Memenuhi syarat.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi<931>*.

*Fase gerak* Buat campuran etil asetat *P-isopropil alkohol P-amoniumhidroksida P-air* (25:15:5:1).

*Penjerap* Campuran *Silika gel P* setebal 0,25 mm.

*Larutan uji* Kocok sejumlah tablet dengan sejumlah *metanol P* hingga larut sempurna dan saring, hingga diperoleh larutan yang mengandung ranitidin 20 mg per ml (setara dengan ranitidin hidroklorida 22,4 mg per ml).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ranitidin Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 0,22 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Buat seri pengenceran *Larutan baku* dalam *metanol P* masing-masing hingga kadar 110 µg per ml (*Enceran larutan baku A*); 66 µg per ml (*Enceran larutan baku B*); 22 µg per ml (*Enceran larutan baku C*); 11 µg per ml (*Enceran larutan baku D*).

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A Ranitidin BPF1* (5[(2-amino-etil) tiometil]-N,N-dimetil-2-furanmetanamina, garam hemifumarat), larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 1,27 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji*, *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku A, B, C, dan D* pada lempeng kromatografi. Totolkan terpisah 10 µl *Larutan uji* dan tambahkan 10 µl *Larutan resolusi* di atas totolan tersebut. Biarkan kering dan masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga tidak kurang dari 15 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan *Fase gerak* menguap. Paparkan uap *iodum P* hingga bercak tampak. Amati lempeng, bandingkan intensitas bercak lain dari *Larutan uji* dengan bercak utama *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku A, B, C, dan D*. Persyaratan kesesuaian sistem dipenuhi jika terjadi pemisahan sempurna antara bercak utama pada kromatogram campuran *Larutan uji* dan *Larutan resolusi* dan jika bercak dapat diamati pada *Enceran larutan baku D* dan tidak ada bercak lain yang menunjukkan intensitas lebih besar dari *Enceran larutan baku A* (0,5%), dan tidak ada bercak lain yang menunjukkan intensitas lebih besar dari *Enceran larutan baku B* (0,3%). Jumlah intensitas seluruh bercak lain dari *Larutan uji* menunjukkan tidak lebih dari 2,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi<931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Ranitidin Hidroklorida*.

*Larutan uji* Timbang saksama 10 tablet, larutkan dengan 250 ml *Fase gerak*. Kocok dan campur hingga tablet hancur sempurna dan saring. Encerkan larutan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga diperoleh larutan dengan kadar yang sama dengan *Larutan baku*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, ranitidin,  $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ , dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{314,40}{350,87} \right) \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Ranitidin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; 314,40 dan 350,87 berturut-turut adalah bobot molekul ranitidin dan ranitidin hidroklorida; L adalah jumlah ranitidin dalam mg per tablet yang tertera pada etiket; D adalah kadar ranitidin dalam mg per ml *Larutan uji* (berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket per tablet dan faktor pengenceran);  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI RANITIDIN Ranitidine Injection

Injeksi Ranitidin adalah larutan steril Ranitidin Hidroklorida dalam Air untuk Injeksi, mengandung Ranitidin,  $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Ranitidin Hidroklorida BPFi;** lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat. *Senyawa Sejenis A Ranitidin BPFi* [5-[[[(2-Aminoetil)tio]metil]-N, N-dimetil-2-furanmetanamina, garam hemifumarat]; simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Senyawa Sejenis C Ranitidin BPFi* [N-[2-[[[5-[(Dimetilamino)metil]-2-furanil]metil] sulfonil]etil]-N-metil-2-nitro-1,1-etendiamina]; simpan dalam wadah tidak tembus cahaya dan ditempat sejuk. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Endotoksin BPFi;* [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh pada Larutan uji dalam uji Kemurnian kromatografi sesuai dengan Larutan baku.

B. Waktu retensi puncak utama yang diperoleh pada kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh dari Penetapan kadar.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 7,0 unit Endotoksin FI per mg ranitidin.

**pH <1071>** Antara 6,7 dan 7,3.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi Volume Kecil.

**Kemurnian kromatografi** Jumlah intensitas seluruh bercak lain selain bercak utama pada Larutan uji tidak lebih dari 5,0%. Lakukan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Larutan uji* Sejumlah volume injeksi yang diukur saksama, encerkan dengan air hingga kadar ranitidin 25 mg per ml. [Catatan Sediaan injeksi dengan kadar yang lebih rendah, gunakan tanpa pengenceran seperti tertera pada Prosedur.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Ranitidin Hidroklorida BPFi, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 560  $\mu$ g per ml.

*Larutan baku encer* Encerkan sejumlah volume Larutan baku yang diukur saksama dengan air hingga kadar berturut-turut lebih kurang 280  $\mu$ g per ml (Larutan

baku encer A), 140  $\mu$ g per ml (Larutan baku encer B), 84  $\mu$ g per ml (Larutan baku encer C), 28  $\mu$ g per ml (Larutan baku encer D) dan 14  $\mu$ g per ml (Larutan baku encer E).

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah Senyawa Sejenis Ranitidin A BPFi, larutkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 1,27 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l Larutan baku, Larutan baku encer A, B, C, D dan E, sejumlah volume Larutan uji, yang setara dengan 250  $\mu$ g ranitidin, pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Pada lempeng yang sama tapi pada titik penotolan yang lain, totolkan sejumlah volume yang sama Larutan uji, dan tambahkan 10  $\mu$ l Larutan resolusi di atas totolan tersebut. Lakukan penetapan Kemurnian kromatografi seperti tertera pada Ranitidin Hidroklorida. Amati lempeng memakai uap iodum dan tandai bercak yang tampak. Bandingkan intensitas bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji dengan bercak utama dari Larutan baku dan Larutan baku encer (A, B, C, D dan E). Kesesuaian sistem dipenuhi jika terjadi pemisahan sempurna antara bercak utama Larutan uji dan Larutan resolusi dan ada bercak pada kromatogram Larutan baku encer E. Bercak lain selain bercak utama yang terbesar mempunyai ukuran dan intensitas tidak lebih besar dari bercak utama Larutan baku (2,0%) dan tidak ada bercak lain yang ukuran dan intensitasnya lebih dari Larutan baku encer A (1,0%).

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti yang tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Buat seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Ranitidin Hidroklorida.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi, encerkan dengan Fase gerak hingga kadar ranitidin lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, ranitidin  $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ , dalam jumlah injeksi yang digunakan, dengan rumus:

$$C \left( \frac{314,40}{350,87} \right) \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

314,40 dan 350,87 berturut-turut adalah bobot molekul ranitidin dan ranitidin hidroklorida; C adalah kadar Ranitidin Hidroklorida BPFi dalam mg per ml Larutan baku; L adalah jumlah ranitidin yang tertera pada etiket, dalam mg per ml injeksi; D adalah kadar ranitidin dalam mg per ml Larutan Uji berdasarkan jumlah yang dinyatakan pada etiket dan faktor pengenceran;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.



**Wadah dan penyimpanan** Simpan larutan dalam dosis tunggal atau dosis ganda dalam wadah gelas tipe I, terlindung cahaya. Simpan di bawah 30°. Tidak boleh dibekukan.

## TABLET REPAGLINIDA

### Repaglinide Tablet

Tablet Repaglinida mengandung Repaglinida,  $C_{27}H_{36}N_2O_4$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Repaglinida BPF1; tidak boleh dikeringkan. Senyawa Sejenis A Repaglinida BPF1, Garam[(S)-3-metil-1-[2-(1-piperidinil)fenil]butilamin, N-asetil-L-glutamat] ( $C_{16}H_{26}N_2 \cdot C_7H_{11}N_5$  BM 435,6), tidak boleh dikeringkan.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Buat campuran toluen P-metilen klorida P-metanol P (2:2:1)

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan 10 mg repaglinida, masukkan ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 10 ml campuran metanol P-metilen klorida P (1:1), kocok selama 15 menit dan sentrifus.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml *dapar pH 5,0* yang dibuat dengan mencampur 10,2 g asam sitrat monohidrat P dan 18,16 g natrium fosfat dibasa dihidrat P dengan 1000 ml air.

*Alat tipe 2*: 75 rpm

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{27}H_{36}N_2O_4$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar fosfat* Buat larutan kalium fosfat dibasa P (1,5 dalam 1000), atur pH hingga 2,3 dengan penambahan asam fosfat P.

*Fase gerak* Buat campuran asetonitril P-Dapar fosfat-metanol P (49:40:11).

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 22 mg Repaglinida BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan metanol P sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml kedua, dan encerkan dengan metanol P sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml ketiga, tambahkan 25 ml metanol P, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi

dilengkapi dengan detektor fluorometri pada panjang gelombang eksitasi 244 nm dan panjang gelombang emisi 348 nm dan kolom 12,5 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 10  $\mu$ m. Pertahankan suhu kolom pada 40° dan laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas,  $k'$ , lebih kurang 1,8; faktor ikutan antara 0,5 dan 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah repaglinida,  $C_{27}H_{36}N_2O_4$  yang terlarut.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q)  $C_{27}H_{36}N_2O_4$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 6,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam menggunakan 2 g serbuk tablet yang ditimbang saksama.

**Kemurnian kromatografi** Jumlah semua cemaran tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar fosfat pH 4,0*, *Dapar fosfat pH 2,5*, *Pengencer*, *Fase gerak*, *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2*, *Larutan uji* dan *Larutan kesesuaian sistem* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku 3* Pipet 2,5 ml *Larutan baku 2* ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor fotodiode "array" 210 nm dan kolom 6 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Pertahankan suhu kolom pada 40° dan laju alir 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas,  $k'$ , untuk repaglinida dan senyawa sejenis A repaglinida berturut-turut lebih kurang 4,9 dan 1,2; resolusi,  $R$ , antara dua puncak tidak kurang dari 7,0; faktor ikutan antara 0,8 dan 2,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku 3*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku 2* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam tablet dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dalam Larutan uji dan  $r_s$  adalah respons puncak repaglinida dalam Larutan baku 2.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Dapar fosfat pH 4,0** Buat larutan amonium fosfat monobasa P (2 dalam 1000) dan atur pH hingga 4,0 dengan penambahan asam fosfat P.

**Dapar fosfat pH 2,5** Buat larutan amonium fosfat monobasa P (2 dalam 1000) dan atur pH hingga 2,5 dengan penambahan asam fosfat P.

**Pengencer** Buat campuran metanol P-Dapar fosfat pH 4,0 (7:3).

**Fase gerak** Buat campuran metanol P-Dapar fosfat pH 2,5 (7:3), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan baku 1** Timbang saksama sejumlah Repaglinida BPFi, larutkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 800 µg per ml.

**Larutan baku 2** Pipet 5 ml Larutan baku 1 ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah Senyawa Sejenis A Repaglinida BPFi, larutkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 80 µg per ml. Pipet 1 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku 1, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Larutan uji** Masukkan 8 tablet ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan dengan Pengencer hingga kadar lebih kurang 80 µg per ml. Aduk selama 20 menit dengan pengaduk magnetik dan saring.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor fotodiode "array" 245 nm dan kolom 6 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 40° dan laju alir 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: faktor kapasitas,  $k'$ , untuk repaglinida dan senyawa sejenis A repaglinida berturut-turut lebih kurang 4,9 dan 1,2; resolusi,  $R$ , antara dua puncak tidak kurang dari 7,0; faktor ikutan antara 0,8 dan 2,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku 2, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

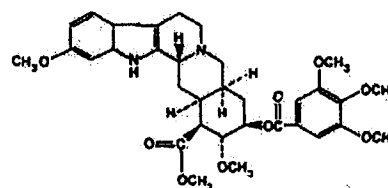
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku 2 dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg repaglinida,  $C_{27}H_{36}N_2O_4$ , dalam masing-masing tablet dengan rumus:

$$\left(\frac{VC}{8}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

$V$  adalah volume dalam ml Pengencer dalam Larutan uji;  $C$  adalah kadar Repaglinida BPFi dalam mg per ml Larutan baku 2;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku 2.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## RESERPIN Reserpine



Metil18β-hidroksi-11,17α-dimetoksi-3β,20α-yohimban-16β-karboksilat 3,4,5 trimetoksi benzoat (ester)[50-55-5]  
 $C_{33}H_{40}N_2O_9$  BM 608,68

Reserpine mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{33}H_{40}N_2O_9$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau sampai agak kekuningan; tidak berbau. Terjadi warna gelap perlahan-lahan oleh cahaya langsung, lebih cepat terjadi dalam bentuk larutan.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; mudah larut dalam asam asetat dan dalam kloroform; sukar larut dalam benzen; sangat sukar larut dalam etanol dan dalam eter.

**Baku pembanding Reserpine BPFi**; lakukan pengeringan pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Reserpine BPFi.

B. [Catatan Lakukan uji ini dengan cepat dan pemaparan cahaya minimum.] Larutkan 25,0 mg zat yang telah dikeringkan dalam 0,25 ml kloroform P dan campur dengan 30 ml metanol P yang telah dihangatkan hingga suhu 50°. Pindahkan campuran dengan bantuan metanol P hangat ke dalam labu tentukur 250-ml, dinginkan sampai suhu kamar dan encerkan dengan metanol P sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 36 ml kloroform P dan encerkan dengan metanol P sampai tanda. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 50.000) pada panjang gelombang antara 255 nm dan 350 nm, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Reserpine BPFi; menggunakan blangko campuran kloroform P-metanol P (36:14); daya serap

masing-masing pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 268 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 60° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak** Buat campuran *asetonitril P*-larutan *amonium klorida P* 1% (1:1), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931> pH lebih kurang 5,6.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Reserpin BPF*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak*, hingga diperoleh kadar lebih kurang 10 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Encerkan 1,0 ml larutan ini dengan 9,0 ml *Fase gerak* dan campur.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 268 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom dari puncak analit tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{33}H_{40}N_2O_9$ , dengan rumus:

$$C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Reserpin BPF* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET RESERPIN Reserpine Tablet

Tablet Reserpin mengandung reserpin,  $C_{33}H_{40}N_2O_9$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Reserpin BPF*; lakukan pengeringan pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Uapkan lebih kurang 2 ml larutan *Larutan uji*, yang diperoleh dari uji untuk *Alkaloid lain*, dalam tabung reaksi sampai kering, tambahkan pada residu 0,5 ml *asam asetat glasial P*, goyang selama 1 sampai 2 menit, tambahkan 1 ml larutan *vanilin P* dalam *asam klorida P* (1 dalam 50): terjadi warna merah muda yang kemudian menjadi merah lembayung tua dalam beberapa menit, atau jika larutan dihangatkan selama 10 detik hingga 20 detik.

**Disolusi** <1231> [Catatan Jangan ganti kertas saring dengan penyaring membran. *Reserpin* diserap oleh membran.]

**Media disolusi**: 500 ml *asam asetat 0,1 N*.

**Alat Tipe 1**: 100 rpm.

**Waktu**: 45 menit.

**Larutan asam p-toluen sulfonat** Larutkan 1 g *asam p-toluen sulfonat P* dalam 100 ml *asam asetat glasial P*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Reserpin BPF*, larutkan dalam *asam asetat glasial P*, jika perlu diencerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *asam asetat glasial P* hingga kadar lebih kurang 0,1 µg per ml.

**Larutan uji** Pipet sejumlah alikuot dari filtrat larutan yang mengandung kurang lebih 11 µg *reserpin* ke dalam corong pisah 125 ml. Ekstraksi tiga kali masing-masing dengan 10 ml *kloroform P*, kumpulkan ekstrak dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *asam asetat glasial P* sampai tanda.

**Prosedur** Pipet 10 ml *Larutan baku*, 10 ml *Larutan uji* dan 10 ml *asam asetat glasial P* sebagai blangko, masukkan masing-masing ke dalam tiga tabung reaksi 50 ml yang berbeda. Pada masing-masing tabung tambahkan 10 ml larutan *asam p-toluen sulfonat P*, tutup, kocok perlahan. Panaskan dalam tangas uap selama 10 menit, angkat, dinginkan. Lakukan penetapan jumlah  $C_{33}H_{40}N_2O_9$  yang terlarut dengan mengukur fluoresensi alikuot dan *Larutan baku* pada panjang gelombang eksitasi 390 nm dan panjang gelombang emisi lebih kurang 480 nm.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{33}H_{40}N_2O_9$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Prosedur untuk keseragaman kandungan**

**Larutan baku** Masukkan 2,0 ml *Larutan baku (Larutan 1)* yang diperoleh seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Reserpin*, ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 2 ml *kloroform P*, encerkan dengan *etanol P* sampai tanda.

**Larutan uji** Masukkan 1 tablet ke dalam Erlenmeyer 50 ml bersumbat kaca. Tambahkan 2 ml air, hancurkan tablet menggunakan batang pengaduk kaca, panaskan di atas tangas uap selama lebih kurang 15 menit atau sampai tablet terdispersi. Dinginkan isi labu, ke luaran batang

pengaduk, bilas dengan 2 ml kloroform P, tutup labu, kocok kuat selama lebih kurang 2 menit. Masukkan isi ke dalam labu tentukur 50-ml dengan bantuan etanol P. Encerkan dengan etanol P sampai tanda. Saring melalui kertas saring, buang 25 ml filtrat pertama. Kumpulkan filtrat selanjutnya dalam Erlenmeyer bersumbat kaca (larutan ini stabil jika terlindung cahaya). Encerkan sejumlah filtrat dengan etanol P hingga kadar lebih kurang 2 µg per ml.

*Pereaksi vanadium pentoksida-asam fosfat* Jenuhkan asam fosfat P dengan vanadium pentoksida P dengan pengocokan secara mekanik selama 2 jam. Saring larutan melalui penyaring kaca masir porositas medium. (Pereaksi ini stabil dan dapat disimpan selama lebih kurang 30 hari tanpa perubahan komposisi). Pada hari penggunaan, buat pereaksi yang diencerkan, dengan mengencerkan 10 ml dengan air hingga 100 ml.

*Prosedur* Masukkan secara terpisah ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml bersumbat kaca, masing-masing 5,0 ml Larutan baku dan Larutan uji. Pada tiap labu tambahkan 5,0 ml *Pereaksi vanadium pentoksida-asam fosfat* yang telah diencerkan, kocok kuat dan diamkan selama 30 menit. Ukur fluoresensi Larutan uji dan Larutan baku menggunakan fluorometer yang sesuai, diatur untuk memberikan aktivitas radiasi pada 400 nm dan ukur fluoresensi yang dihasilkan pada puncak emisi lebih kurang 500 nm. Hitung jumlah dalam µg reserpin per ml Larutan uji dengan rumus:

$$C_s \left( \frac{F_u}{F_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar Reserpin BPF1 dalam µg per ml Larutan baku;  $F_u$  dan  $F_s$  berturut-turut adalah fluoresensi yang diukur dari Larutan uji dan Larutan baku.

#### Alkaloid lain

Lakukan Kromatografi Kolom seperti pada Kromatografi <931>.

*Penjerap* Gunakan tanah silika untuk kromatografi P yang telah dicuci dengan asam.

*Tabung kromatografi* Tabung panjang lebih kurang 200 mm, diameter dalam lebih kurang 22 mm dan ujung bawah dekat ke luaran disempitkan. Pada bagian tabung yang disempitkan, masukkan sedikit kaca wol yang sebelumnya telah dicuci dengan kloroform P dan dikeringkan di udara.

*Kolom kromatografi* Campur 1 g Penjerap dengan 0,5 ml larutan natrium bikarbonat P (1 dalam 50) yang dibuat baru dalam gelas piala 100 ml hingga campuran nampak halus dan basah merata, masukkan ke dalam tabung kromatografi dan tekan perlahan-lahan menggunakan batang pengaduk hingga ketebalan lebih kurang 7-9 mm. Campur homogen 1 g Penjerap dengan 0,5 ml larutan asam sitrat P (1 dalam 200) yang dibuat baru, masukkan ke dalam tabung kromatografi dan tekan perlahan menggunakan batang pengaduk. Campur homogen 1 g Penjerap dengan 0,5 ml air, masukkan ke

dalam Tabung kromatografi, tekan perlahan menggunakan batang pengaduk.

*Campuran blangko* Campur 1 ml dimetil sulfoksida P dan 2 g Penjerap dalam wadah yang sesuai, aduk hingga massa basah merata dan tidak ada gumpalan.

*Larutan blangko* Masukkan Campuran blangko ke dalam tabung kromatografi yang sudah dipersiapkan melalui corong. Bilas gelas piala dengan lebih kurang 1 g Penjerap, kemudian masukkan dalam tabung melalui corong. Bersihkan spatula, gelas piala dan corong dengan wol kaca yang sebelumnya telah dicuci dengan kloroform P dan dikeringkan di udara. Masukkan wol kaca ke dalam tabung, tekan ke bagian bawah kolom dengan batang pengaduk hingga tinggi kolom antara 55-65 mm. Bilas spatula, gelas piala dan corong dengan sejumlah pertama kloroform P yang digunakan untuk eluasi zat. Eluasi reserpin dengan 45 ml kloroform P [Catatan Eluasi kolom biasanya memerlukan waktu 4-8 menit.] Kumpulkan eluat dalam labu tentukur 50-ml yang berisi 14 ml metanol P. Bilas ujung kolom dengan kloroform P, tambahkan kloroform P sampai tanda.

*Larutan baku* [Catatan Gunakan peralatan kaca aktinik untuk larutan ini.] Timbang saksama 25 mg Reserpin BPF1, larutkan dalam 0,25 ml kloroform P, campur dengan lebih kurang 30 ml metanol P yang sebelumnya telah dihangatkan hingga 50°. Masukkan campuran ke dalam labu tentukur 250-ml dengan penambahan metanol P hangat, dinginkan larutan hingga suhu ruang, encerkan dengan metanol P sampai tanda. Pada saat akan digunakan, pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 36 ml kloroform P, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

*Campuran uji* Timbang tidak kurang dari 20 tablet, serbukkan dan ayak melalui pengayak 60 mesh. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 1 mg reserpin, tetapi tidak lebih dari 1 g serbuk, masukkan ke dalam gelas piala 150 ml. Campur serbuk dengan lebih kurang 500 mg Penjerap, kemudian campur dengan 1 ml dimetil sulfoksida P (fase diam). Aduk hingga massa basah merata dan tidak ada gumpalan, biarkan selama 5 menit. Tambahkan 500 mg Penjerap. Aduk hingga rata. Tambahkan lagi sejumlah Penjerap hingga jumlah total yang ditambahkan 2 g, dispersikan secara merata.

*Larutan uji* Masukkan Campuran uji ke dalam kolom kromatografi melalui corong serbuk. Lakukan seperti tertera pada Larutan blangko dimulai dari "Bilas gelas piala dengan lebih kurang 1 g Penjerap."

*Prosedur* Ukur serapan ultraviolet Larutan uji pada panjang gelombang antara 255 nm dan 350 nm, menggunakan Larutan blangko dalam sel pembanding. Dengan cara yang sama, ukur serapan ultraviolet Larutan baku menggunakan campuran kloroform P-metanol P (3,6:1,4) sebagai blangko. Spektrum serapan kedua larutan menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama dengan Larutan baku dan perbandingan  $A_{268}/A_{295}$  untuk Larutan uji berbeda tidak lebih dari 4,0% dari Larutan baku. Hitung jumlah dalam

mg, C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>, dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{A_U}{A_S}$$

A<sub>U</sub> dan A<sub>S</sub> berturut-turut adalah serapan maksimum Larutan uji dan Larutan baku pada panjang gelombang lebih kurang 268 nm. Hasil yang diperoleh berbeda tidak lebih 6,0% dibandingkan dengan yang diperoleh dari Penetapan kadar.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Reserpin.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 1 mg reserpin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan Fase gerak sampai tanda, saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,8 µm atau lebih halus.

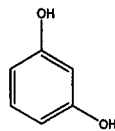
*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Reserpin. Hitung jumlah dalam mg reserpin, C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$0,1C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Reserpin BPFI dalam µg per ml Larutan baku; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## RESORSINOL Resorcinol



Resorsinol [108-46-3]  
C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>

BM 110,11

Resorsinol mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk atau hablur bentuk jarum, putih atau praktis putih; bau khas lunak; rasa manis diikuti rasa

pahit. Oleh pengaruh cahaya atau udara: berwarna agak merah muda.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, dalam etanol, dalam gliserol dan dalam eter; sukar larut dalam kloroform. Larutan (1 dalam 20) bereaksi netral atau asam terhadap kertas lakmus.

**Baku pembanding** Resorsinol BPFI; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Hindari kontak dengan logam.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Resorsinol BPFI. Jika terdapat perbedaan, larutkan kedua zat uji dan baku pembanding masing-masing dalam etanol mutlak P, uapkan larutan hingga kering dan ulangi menggunakan sisa pengeringan.

B. Larutkan 100 mg zat dalam 2 ml natrium hidroksida 1 N, tambahkan 1 tetes kloroform P, panaskan: terjadi warna merah tua yang cerah. Tambahkan asam klorida P sedikit berlebih: warna menjadi kuning pucat.

C. Pada 10 ml larutan (1 dalam 100) tambahkan 1 tetes besi(III) klorida LP: terjadi warna ungu kebiruan yang berangsur-angsur hilang.

**Suhu lebur** <1021> Antara 109° dan 111°

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%, lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,05 %

**Fenol** Panaskan hati-hati larutan (1 dalam 20): tidak tercium bau fenol.

**Katekol** Pada 10 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan 2 tetes asam asetat 1 N, campur, tambahkan 0,5 ml timbal(II) asetat LP: tidak terjadi kekeruhan.

**Cemaran umum** <481> Tidak lebih dari 1,0%

*Larutan uji* Gunakan pelarut metanol P

*Larutan baku* Gunakan pelarut metanol P

*Fase gerak* Buat campuran heksan P-etil asetat P (70:30)

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 17 kemudian nomor 1.

*Volume penotolan* 10 µl.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 1,5 g zat, larutkan dalam air hingga volume 500,0 ml. Pindahkan 25,0 ml ke dalam labu iodum, tambahkan 50,0 ml brom 0,1 N LV, encerkan dengan 50 ml air, tambahkan 5 ml asam klorida P, tutup labu. Kocok selama 1 menit, biarkan selama 2 menit, tambahkan 10 ml kalium iodida LP tutup sedikit dilonggarkan. Kocok, biarkan selama 5 menit, angkat tutup, bilas tutup dan leher labu dengan 20 ml air. Titrasi iodum yang

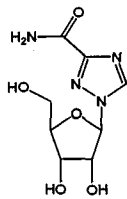
dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, menggunakan indikator *kanji LP*. Lakukan penetapan blangko. Dari volume *natrium tiosulfat 0,1 N LV* yang digunakan, hitung volume *brom 0,1 N* dalam ml yang digunakan oleh resorsinol.

Tiap ml brom 0,1 N  
setara dengan 1,835 mg  $C_6H_6O_2$ .

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## RIBAVIRIN

### Ribavirin



*1-β-D-Ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-karboksamida*  
[36791-04-5]  
 $C_8H_{12}N_4O_5$  BM 244,20

Ribavirin mengandung tidak kurang dari 98,9% dan tidak lebih dari 101,5%  $C_8H_{12}N_4O_5$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol absolut.

**Baku pembanding** *Ribavirin BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Ribavirin BPFi*.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P-amonium klorida 0,1 M (9:2)*.

*Penampak bercak* Buat campuran *anisaldehida P-asam sulfat P-asam asetat glasial P-etanol P (0,5:0,5:0,1:9)*

*Larutan uji* 10 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Biarkan lempeng mengering di udara selama 15 menit. Tandai bercak pada kromatogram dengan menyemprotkan *Penampak bercak*. Panaskan pada 110° selama 30 menit dan tandai bercak pada kromatogram.

**Rotasi jenis <1081>** Antara -33,5° dan -37,0°; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam air yang mengandung 10 mg per ml pada suhu 20°.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 50) dengan penambahan 0,2 ml *kalium klorida jenuh P* setiap 50 ml larutan.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 5 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,25%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing puncak cemaran tidak lebih dari 0,25% dan jumlah puncak cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 10 µl *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak kecuali puncak pelarut. Hitung persentase masing-masing puncak, kecuali puncak pelarut dan puncak ribavirin dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_U} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dan  $r_U$  adalah jumlah semua respons puncak kecuali puncak pelarut.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Atur pH air hingga 2,5±0,1 dengan penambahan *asam sulfat P*. Saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Ribavirin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar 25 µg per ml.

*Larutan uji persediaan* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 50 ml *Fase gerak*, goyang dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Pipet 5 ml *Larutan uji persediaan* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 207 nm dan kolom 10 cm x

7,8 mm berisi bahan pengisi L17. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit dan pertahankan suhu kolom pada  $65^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ . Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan antara 0,7 dan 1,5; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 0,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama.

Hitung jumlah dalam mg ribavirin,  $C_8H_{12}N_4O_5$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

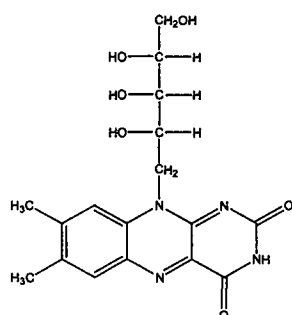
$$2000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Ribavirin BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak ribavirin dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## RIBOFLAVIN

### Riboflavin



*Riboflavin* [83-88-5]

$C_{17}H_{20}N_4O_6$

BM 376,36

Riboflavin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{17}H_{20}N_4O_6$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; kuning hingga kuning jingga; bau lemah. Melebur pada suhu lebih kurang  $280^{\circ}$ . Larutan jernihnya netral terhadap lakmus. Jika kering tidak begitu dipengaruhi oleh cahaya terdifusi, tetapi dalam larutan sangat cepat terjadi peruraian, terutama jika ada alkali.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air, dalam etanol, dan dalam larutan natrium klorida 0,9%; sangat mudah larut dalam larutan alkali encer; tidak larut dalam eter dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Riboflavin BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu  $105^{\circ}$  selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Larutan 1 mg zat dalam 100 ml air dilihat dengan cahaya yang ditransmisikan larutan berwarna kuning pucat kehijauan, berfluoresensi hijau kekuningan intensif, yang dengan penambahan asam mineral atau alkali, fluoresensi hilang.

**Rotasi jenis** <1081> Antara  $-115^{\circ}$  dan  $-135^{\circ}$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan dengan menggunakan larutan dalam *natrium hidroksida* 0,05 M bebas karbonat yang mengandung 50 mg per 10 ml, diukur dalam waktu 30 menit setelah disiapkan.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,5%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^{\circ}$  selama 2 jam menggunakan 500 mg.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,3%.

**Lumiflavin** Buat *kloroform bebas etanol P* segar. Kocok 20 ml *kloroform P* secara hati-hati dengan 20 ml air selama 3 menit, alirkan lapisan *kloroform* dan cuci dua kali lagi dengan masing-masing 20 ml air. Saring *kloroform* melalui kertas saring, kemudian kocok selama 5 menit dengan 5 g *natrium sulfat anhidrat P*, biarkan selama 2 jam, dan dekantasi atau saring *kloroform* yang jernih. Lakukan penetapan sebagai berikut: Kocok 25 mg zat dengan 10 ml *kloroform bebas etanol P* selama 5 menit, saring; ukur serapan filtrat pada panjang gelombang 440 nm terhadap blangko *kloroform bebas etanol P*; tidak lebih dari 0,025.

**Penetapan kadar** Lakukan seluruh penetapan terlindung cahaya matahari langsung.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml yang berisi lebih kurang 50 ml air. Tambahkan 5 ml *asam asetat 6 N* dan air secukupnya hingga lebih kurang 800 ml. Panaskan di atas tangas uap, terlindung cahaya sambil sering dikocok sampai larut. Dinginkan hingga suhu lebih kurang  $25^{\circ}$ , encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan larutan secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga sesuai dengan sensitifitas dari fluorometer yang digunakan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Riboflavin BPFI* dan dengan cara yang sama buat larutan hingga kadar setara dengan *Larutan uji*. Ukur intensitas fluoresensi pada panjang gelombang lebih kurang 530 nm (lebih baik pada panjang gelombang eksitasi lebih kurang 444 nm). Segera setelah pembacaan, tambahkan lebih kurang 10 mg *natrium hidrosulfit P*, aduk dengan pengaduk kaca hingga larut, dan ukur lagi fluoresensinya. Perbedaan kedua pembacaan menunjukkan intensitas fluoresensi *Larutan baku*. Dengan cara yang sama, ukur intensitas fluoresensi dari *Larutan uji* yang ditetapkan pada lebih kurang 530 nm, sebelum dan sesudah penambahan

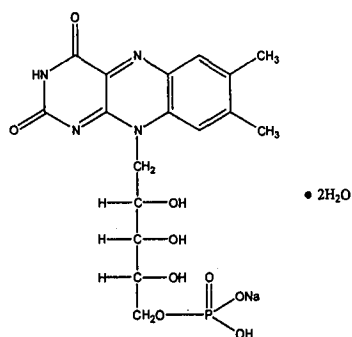
natrium hidrosulfid P. Hitung jumlah dalam  $\mu\text{g}$  Riboflavin,  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ , per ml pada Larutan uji dengan rumus :

$$C \left( \frac{I_U}{I_S} \right)$$

C adalah kadar Riboflavin BPFi dalam  $\mu\text{g}$  per ml Larutan baku;  $I_U$  dan  $I_S$  berturut-turut adalah harga fluoresensi yang telah dikoreksi dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### RIBOFLAVIN NATRIUM FOSFAT Riboflavin Phosphate Sodium



Riboflavin 5'-(natrium hidrogen fosfat) dihidrat [130-40-5]  
 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{NaO}_9\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  BM 514,36  
Anhidrat BM 478,33

Riboflavin Natrium Fosfat mengandung tidak kurang dari 73,0% dan tidak lebih dari 79,0%  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur halus; kuning jingga; bau lemah; higroskopik; dalam keadaan kering tidak dipengaruhi cahaya, dalam larutan dipengaruhi cahaya terjadi peruraian cepat.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air.

**Baku pembanding** Riboflavin BPFi; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Riboflavin Fosfat BPFi.

#### Identifikasi

A. Larutan 1 mg dalam 100 ml air dilihat dengan cahaya transmisi berwarna kuning pucat kehijauan dan menunjukkan fluoresensi hijau kekuningan intensif, yang hilang setelah ditambah asam mineral atau alkali.

B. Pada 500 mg tambahkan 10 ml asam nitrat P, uapkan campuran di atas air hingga kering, pijarkan sisa hingga karbon hilang. Larutkan sisa dalam 5 ml air,

saring; filtrat menunjukkan reaksi Natrium cara A, B dan Fosfat seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**Rotasi jenis** <1081> Antara 37,0° dan 42,0°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan dalam waktu 15 menit menggunakan larutan yang mengandung 150 mg per 10 ml dalam asam klorida 5 N.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 100).

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 7,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P pada suhu 100° selama 5 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 25,0%.

**Fosfat bebas** Tidak lebih dari 1% sebagai  $\text{PO}_4$ ; lakukan penetapan sebagai berikut:

**Larutan asam molibdat** Encerkan 25 ml larutan amonium molibdat P (7 dalam 100) dengan air hingga 200 ml. Pada larutan ini tambahkan perlahan-lahan 25 ml asam sulfat 7,5 N, campur.

**Larutan besi(II)sulfat** Buat larutan segar besi(II) sulfat P dalam asam sulfat 0,15 N (1 dalam 10).

**Larutan baku** Buat larutan kalium fosfat monobasa P dalam air hingga kadar 44,0  $\mu\text{g}$  per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 300 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Prosedur** Pipet masing-masing 10,0 ml Larutan baku dan Larutan uji masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml yang berbeda, tambahkan 10,0 ml Larutan asam molibdat dan 5,0 ml Larutan besi(II)sulfat ke dalam tiap labu. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 700 nm, menggunakan campuran 10,0 ml air, 10,0 ml Larutan asam molibdat dan 5,0 ml Larutan besi(II) sulfat sebagai blangko: serapan Larutan uji tidak lebih besar dari Larutan baku.

**Riboflavin bebas dan riboflavin difosfat** [Catatan Selama penetapan terlindung cahaya dan gunakan peralatan kaca aktinik rendah.] Riboflavin bebas tidak lebih dari 6,0% dan Riboflavin difosfat tidak lebih dari 6,0% sebagai Riboflavin, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Fase gerak** Buat campuran 850 ml kalium fosfat monobasa 0,054 M dengan 150 ml metanol P, saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 60 mg Riboflavin BPFi, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan hati-hati dalam 1 ml asam klorida P, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 4 ml ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 100,0 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan



dalam 50 ml air, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 8 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah *Riboflavin Fosfat BPF1* dalam air hingga kadar 2 mg per ml. Tambahkan *Fase gerak*, volume sama, campur. Pipet 8 ml larutan ini dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga 50,0 ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor fluorometri, yang diatur pada panjang gelombang eksitasi pada 440 nm dan filter emisi pada 470 nm atau atur pada lebih kurang 530 nm untuk detektor fluoresen yang menggunakan monokromator untuk pemilihan panjang gelombang emisi, dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Waktu retensi riboflavin 5'-monofosfat lebih kurang 20 menit sampai 25 menit dan waktu retensi relatif untuk masing-masing senyawa:

Riboflavin 3'4'-difosfat:	0,23
Riboflavin 3'5'-difosfat:	0,39
Riboflavin 4'5'-difosfat:	0,58
Riboflavin 3'-monofosfat:	0,70
Riboflavin 4'-monofosfat:	0,87
Riboflavin 5'-monofosfat:	1,00
Riboflavin	1,63

Resolusi, *R*, resolusi antara puncak riboflavin 4'-monofosfat dan riboflavin 5'-monofosfat tidak kurang dari 1,0 dan simpangan baku relatif dari respons riboflavin 5'-monofosfat pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Larutan kesesuaian sistem* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak dari *Larutan baku* dan *Larutan uji*, tetapkan puncak yang akan diukur dari kromatogram *Larutan uji* dengan membandingkan waktu retensi dengan puncak dari kromatogram *Larutan kesesuaian sistem*. Hitung persentase riboflavin bebas dengan rumus:

$$625 C \left( \frac{r_F}{r_S} \right)$$

dan hitung persentase riboflavin dalam bentuk riboflavin difosfat dengan rumus:

$$625 C \left( \frac{r_D}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Riboflavin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>F</sub>* adalah respons puncak riboflavin jika ada dari *Larutan uji*; *r<sub>D</sub>* adalah jumlah respons puncak

salah satu dari tiga riboflavin difosfat dari *Larutan uji*; *r<sub>S</sub>* adalah respons puncak riboflavin dari *Larutan baku*.

**Lumiflavin** Lakukan penetapan menggunakan 35 mg zat, kocok dengan 10 ml *kloroform P* bebas alkohol (pembuatan *kloroform P* bebas alkohol, seperti tertera pada penetapan Lumiflavin dalam Riboflavin) selama 5 menit, saring; ukur serapan filtrat pada panjang gelombang 440 nm, terhadap blanko dengan *kloroform P* bebas alkohol: tidak lebih dari 0,025.

**Penetapan kadar** [Catatan Selama penetapan seluruh larutan terlindung cahaya aktinik dan gunakan peralatan dari kaca aktinik rendah.]

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 35 mg *Riboflavin BPF1* masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, tambahkan 20 ml *piridin P* dan 75 ml air, kocok sampai larut. Masukkan larutan ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 1000-ml kedua, tambahkan lebih kurang 4 ml *asam sulfat 0,1 N* agar diperoleh pH larutan antara 5,9 dan 6,1, encerkan dengan air sampai tanda. Kadar *Larutan baku* yang diperoleh lebih kurang 0,35 µg riboflavin per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, tambahkan 20 ml *piridin P* dan 75 ml air kocok sampai larut. Masukkan larutan ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 1000-ml kedua, tambahkan lebih kurang 4 ml *asam sulfat 0,1 N* agar diperoleh pH larutan antara 5,9 dan 6,1, encerkan dengan air sampai tanda.

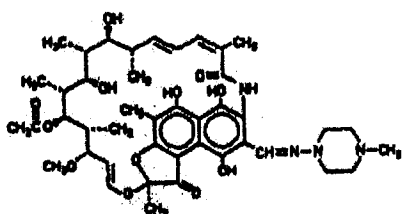
*Prosedur* Ukur intensitas fluoresensi maksimum *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang lebih kurang 530 nm, menggunakan panjang gelombang eksitasi lebih kurang 440 nm. Hitung jumlah dalam mg riboflavin,  $C_{17}H_{20}N_4O_6$ , dalam riboflavin natrium fosfat yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{I_U}{I_S} \right)$$

Segera setelah pembacaan, tambahkan lebih kurang 10 mg *natrium hidrosulfid P*, aduk dengan pengaduk kaca hingga larut dan ukur lagi fluoresensinya. *C* adalah kadar *Riboflavin BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku*; *I<sub>U</sub>* dan *I<sub>S</sub>* berturut-turut adalah intensitas fluoresensi dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**RIFAMPISIN**  
**Rifamycin**



5,6,9,17,19,21-Heksahidroksi-23-metoksi-2,4,12,16,18,20,22-heptametil-8-[N-(4-metil-1-piperazinil)formimidoil]-2,7-(epoksipentadeka [1,11,13]trienimino)naftol[2,1-b]furan-1,11-(2H)-dion 21-asetat [13292-46-1]

$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$

BM 822,95

Rifampisin mengandung tidak kurang dari 95,5% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  per mg, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian Serbuk** hablur, coklat merah.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam kloroform; larut dalam etil asetat dan dalam metanol.

**Baku pembanding Rifampisin BPF1**; tidak boleh dikeringkan; lakukan *Penetapan Susut Pengeringan* <1121> pada sebagian zat, saat akan digunakan. *Rifampisin Kuinon BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Rifampisin BPF1*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 4,5 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan suspensi (1 dalam 100).

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg.

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 1,5% rifampisin kuinon; tidak lebih dari 1% untuk senyawa sejenis lainnya; tidak lebih dari 3,5% untuk semua senyawa sejenis kecuali rifampisin kuinon dengan waktu retensi sampai tiga kali waktu retensi rifampisin. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar fosfat, Fase gerak, Campuran pelarut, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan uji persediaan* Timbang saksama lebih kurang 200 mg rifampisin masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *asetonitril P* sampai tanda. Jika perlu sonikasi selama lebih kurang 30 detik sampai larut [*Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 2 jam.*]

*Larutan uji Pipet* 5 ml larutan uji persediaan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda [*Catatan Suntikkan segera larutan ini dalam kromatografi.*]

*Enceran larutan uji Pipet* 10 ml *Larutan uji persediaan* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *asetonitril P* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *asetonitril P* sampai tanda, campur. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml yang lain, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda [*Catatan Suntikkan segera larutan terakhir ke dalam kromatografi.*]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan uji* dan *Enceran larutan uji* ke dalam kromatografi, ukur semua respons puncak. Hitung persentase tiap senyawa sejenis dengan rumus:

$$\left( \frac{r_n}{(r_D + 0,01 \sum r_{Ti})} \right)$$

$r_n$  adalah luas puncak senyawa sejenis dari *Larutan uji*;  $r_D$  adalah luas puncak rifampisin dari *Enceran larutan uji*;  $\sum r_{Ti}$  adalah jumlah semua luas puncak senyawa sejenis *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar fosfat* Larutkan 136,1 g *kalium fosfat monobasa P* dalam lebih kurang 500 ml air, tambahkan 6,3 ml *asam fosfat P*, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril *P-dapar fosfat-asam sitrat* 1,0 *M-natrium perklorat* 0,5 *M* (510:350:100:20:20), saring melalui penyaring dengan porositas 0,7 µm atau lebih kecil dan awaudarakan, jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Campuran pelarut* Buat campuran air-asetonitril *P-kalium fosfat dibasa* 0,1 *M-kalium fosfat monobasa* 1,0 *M-asam sitrat* 1,0 *M* (640:250:77:23:10).

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 40 mg *Rifampisin BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml. Larutkan dan encerkan dengan *asetonitril P* sampai tanda. Jika perlu sonikasi selama lebih kurang 30 detik sampai larut [*Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 5 jam.*] Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda [*Catatan Suntikkan segera larutan ke dalam kromatografi.*]

*Larutan uji* Lakukan seperti tertera pada *Larutan baku* dengan menggunakan zat uji setara dengan 40 mg rifampisin.

*Larutan resolusi* Timbang sejumlah *Rifampisin BPFi* dan *Rifampisin Kuinon BPFi*, larutkan masing-masing dalam *asetonitril P* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml. Pipet 1 ml larutan ini, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda.

*Sistem Kromatografi* <931> Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam repons puncak seperti pada *Prosedur: resolusi, R*, antara puncak *rifampisin kuinon* dan puncak *rifampisin* tidak kurang dari 4,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti *Prosedur: efisiensi kolom* dari puncak *rifampisin* tidak kurang dari 1000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0 %.

*Prosedur* [Catatan Gunakan luas puncak jika dinyatakan respons puncak.] Suntikan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif *rifampisin kuinon* dan *rifampisin* berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg *rifampisin*,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$2000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Rifampisin BPFi* dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *rifampisin* yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat, terlindung dari panas berlebih.

## KAPSUL RIFAMPISIN

### Rifamycin Capsule

Kapsul *Rifampisin* mengandung  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Rifampisin BPFi*; tidak boleh dikeringkan; lakukan *Penetapan Susut Pengerinan* <1121> pada sebagian zat, saat akan digunakan. Hindari paparan oksigen. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Rifampisin Kuinon BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering.

## Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>. Totolkan secara terpisah masing-masing 3 µl larutan dalam *kloroform P* yang mengandung (1) zat uji yang dibuat dengan cara: gerus sejumlah isi kapsul setara lebih kurang 50 mg dengan 5 ml *kloroform P*, saring dan (2) *Rifampisin BPFi*, 10 mg per ml *kloroform P*, pada jarak yang sama dari tepi lempeng kromatografi campuran silika gel setebal 0,25 mm. Biarkan bercak kering dan masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak campuran *kloroform P-metanol P* (90:10), biarkan merambat lebih kurang setengah tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan fase gerak menguap. Amati bercak merah pada lempeng: harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

B. Waktu retensi puncak utama *rifampisin* dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

## Disolusi <1231>

*Media disolusi* : 900 ml asam klorida 0,1 N

*Alat tipe* : 1: 100 rpm

*Waktu* : 45 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan larutan baku *Rifampisin BPFi* dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, dan dibuat bersamaan dalam tangas air selama 45 menit, dalam media yang sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 475 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 3,0 %; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara, pada suhu 60° selama 3 jam menggunakan lebih kurang 100 mg isi kapsul.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat. *Prosedur keseragaman kandungan*.

*Dapar fosfat, Fase gerak, Campuran pelarut, Pengencer, Larutan baku, Larutan resolusi*, dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan uji* Buat larutan yang mengandung 1,5 mg *rifampisin* per ml dengan cara sebagai berikut: Masukkan isi 1 kapsul ke dalam labu tentukur yang sesuai. Bilas cangkang kapsul dengan sedikit *Campuran pelarut*, masukkan cucian ke dalam labu tentukur, tambahkan *Campuran pelarut* hingga berisi lebih kurang empat per lima bagian. Lakukan seperti pada *Larutan uji* yang tertera pada *Penetapan kadar*, mulai dengan "sonikasi selama lebih kurang 5 menit".

*Prosedur* Lakukan seperti pada *Prosedur* yang tertera pada *Penetapan kadar*. Hitung jumlah dalam mg *Rifampisin*,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , dalam isi kapsul dengan rumus:

$$\left(\frac{LC}{D}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

*L* adalah jumlah rifampisin dalam mg dalam kapsul seperti tertera pada etiket; *C* adalah kadar Rifampisin BPF<sub>I</sub> dalam mg per ml Larutan baku yang dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; *D* adalah kadar rifampisin dalam mg per ml Larutan uji, berdasarkan jumlah yang tertera pada tiap kapsul pada etiket dan tingkat pengenceran; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Dapar fosfat** Larutkan 136,1 g kalium fosfat monobasa P dalam lebih kurang 500 ml air, tambahkan 6,3 ml asam fosfat P, encerkan dengan air hingga 1000 ml dan campur (pH 3,1±0,1)

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril P-Dapar fosfat-asam sitrat 1,0 M-natrium perklorat 0,5 M (510:350:100:20:20), saring melalui penyaring dengan porositas 0,7 µm atau lebih kecil dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Campuran pelarut** Campuran asetonitril P-metanol P (1:1).

**Pengencer** Campuran air-asetonitril P-natrium fosfat dibasa 1,0 M-kalium fosfat monobasa 1,0 M-asam sitrat 1,0 M (640:250:77:23:10).

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Rifampisin BPF<sub>I</sub>, larutkan dalam Campuran pelarut hingga kadar lebih kurang 1,5 mg per ml, bila perlu sonikasi selama lebih kurang 30 detik. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan asetonitril P sampai tanda dan campur. [Catatan Gunakan Larutan baku kerja tersebut dalam waktu 5 jam.] Pipet 5 ml larutan baku kerja ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda: 1 ml larutan mengandung lebih kurang 0,03 mg Rifampisin BPF<sub>I</sub>. [Catatan Suntikkan Larutan baku ke dalam kromatograf dalam waktu 30 - 60 detik setelah dibuat.]

**Larutan uji** Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luar isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 300 mg rifampisin, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml dan tambahkan lebih kurang 180 ml Campuran pelarut. Sonikasi selama lebih kurang 5 menit, biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan Campuran pelarut sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml encerkan dengan asetonitril sampai tanda. [Gunakan Larutan ini dalam waktu 5 jam.] Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda. [Catatan Suntikkan Larutan uji ke dalam

kromatograf dalam waktu 30 sampai 60 detik setelah pembuatan.]

**Larutan resolusi** Timbang saksama sejumlah Rifampisin Kuinon BPF<sub>I</sub>, larutkan dalam Campuran pelarut hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml. Pipet 1,5 ml larutan ini dan 5,0 ml larutan baku kerja yang digunakan pada pembuatan Larutan baku ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7, ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif rifampisin kuinon dan rifampisin berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0 dan resolusi R, antara puncak rifampisin kuinon dan rifampisin tidak kurang dari 4,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

**Prosedur** [Catatan Gunakan luas puncak jika dinyatakan respons puncak] Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg Rifampisin, C<sub>43</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$10.000C\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

*C* adalah kadar Rifampisin BPF<sub>I</sub> dalam mg per ml Larutan baku dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

## SUSPENSI ORAL RIFAMPISIN Rifamycin Oral Suspension

Suspensi Oral Rifampisin mengandung Rifampisin, C<sub>43</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub> tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Gunakan rifampisin atau sejumlah kapsul rifampisin yang menunjukkan jumlah rifampisin dan buat suspensi oral rifampisin seperti berikut

Rifampisin ..... 1,20 g  
Sirup, secukupnya hingga ..... 120 ml

Masukkan 1,20 g rifampisin, atau isi Kapsul Rifampisin, ke dalam lumpang. [Catatan Jika perlu, hancurkan dengan hati-hati isi kapsul dengan alu sampai menjadi serbuk halus.] Tambahkan lebih kurang 2 ml sirup ke dalam lumpang, gerus sampai menjadi pasta halus. Tambahkan lebih kurang 10 ml sirup, dan gerus sampai

menjadi suspensi. Lanjutkan penambahan sirup hingga 80 ml. Masukkan suspensi ini ke dalam botol kaca atau botol plastik kedap cahaya yang sudah dikalibrasi. Bilas lumpang dan alu berturut-turut dengan sedikit sirup dan tambahkan bilasan ke dalam botol, kocok kuat. Jika perlu, tambahkan asam sitrat P atau natrium sitrat P atur hingga pH 5,0. Tambahkan perisa jika diinginkan. Tambahkan sirup secukupnya hingga 120 ml dan kocok kuat sampai menjadi suspensi oral.

**Baku pembanding Rifampisin BPFi**; tidak boleh dikeringkan; lakukan *Penetapan Susut Pengerinan* <1121> pada sebagian zat yang terpisah, saat akan digunakan. Hindari paparan oksigen. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Rifampisin Kuinon BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering.

**pH** <1071> Antara 4,5 dan 5,5.

**Penetapan kadar Dapar fosfat, Campuran pelarut, dan Larutan resolusi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Rifampisin*.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril P-Dapar fosfat-asam sitrat 1,0 M-natrium perklorat 0,5 M (500:360:100:20:20), saring melalui penyaring dengan porositas 0,7 µm atau lebih kecil, dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer* Buat campuran asetonitril P-air (1:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Rifampisin BPFi* larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml. Jika perlu sonikasi selama lebih kurang 30 detik sampai larut. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur aktinik rendah 50-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 1 jam.]

*Larutan uji* Pipet 5 ml suspensi yang dicampur segar dan bebas gelembung udara ke dalam labu tentukur aktinik rendah 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur aktinik rendah 50-ml encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>; kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5 µm. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; waktu retensi relatif rifampisin kuinon dan rifampisin berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0 dan resolusi, *R*, antara puncak rifampisin kuinon dan rifampisin tidak kurang dari 4,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg rifampisin, C<sub>43</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, dalam suspensi oral rifampisin yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Rifampisin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku* dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam botol kaca atau botol plastik tertutup rapat tidak tembus cahaya, dengan penutup tidak mudah dibuka anak. Simpan pada suhu ruang terkendali.

Gunakan dalam waktu 30 hari setelah dibuat menjadi suspensi oral.

## RIFAMPISIN UNTUK INJEKSI

### Rifampicin for Injection

Rifampisin untuk Injeksi mengandung Rifampisin, C<sub>43</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Rifampisin BPFi**; tidak boleh dikeringkan; lakukan *Penetapan susut pengerinan* <1121> pada sebagian zat yang terpisah, saat akan digunakan. Hindari paparan oksigen. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Rifampisin Kuinon BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi; gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Menunjukkan reaksi uji *Identifikasi A* seperti tertera pada *Kapsul Rifampisin*; Buat larutan uji dengan melarutkan isi wadah dalam kloroform P hingga kadar rifampisin lebih kurang 10 mg per ml.

B. Waktu retensi puncak utama rifampisin *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,5 unit Endotoksin FI per mg Rifampisin; lakukan penetapan dengan cara berikut: Larutkan *rifampisin untuk injeksi* dalam air bebas endotoksin hingga diperoleh larutan induk 10 mg per ml. Encerkan larutan induk secara

kuantitatif, dan bertahap jika perlu, dengan air bebas endoktosin hingga kadar 0,12 mg per ml rifampisin.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**pH** <1071> Antara 7,8 dan 8,8; lakukan penetapan menggunakan larutan mengandung rifampisin 60 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,0%.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi Volume Kecil*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>

*Larutan dapar fosfat, Fase gerak, Campuran pelarut, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Rifampisin*.

*Larutan uji 1* (Menggunakan wadah dosis tunggal); Konstitusikan *Rifampisin untuk injeksi* dengan jumlah volume air yang diukur saksama, setara dengan volume pengencer yang tertera pada etiket. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 2 jam setelah pembuatan.] Ke luaran seluruh isi, menggunakan jarum suntik hipodermik yang sesuai, pindahkan ke dalam labu tentukur yang sesuai dan encerkan dengan *asetonitril P* hingga kadar 6 mg rifampisin per ml. [Catatan Gunakan larutan induk ini dalam waktu 5 jam setelah pembuatan.] Encerkan sejumlah volume larutan induk yang diukur saksama secara kuantitatif dan bertahap dengan *Campuran pelarut* hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,02 mg per ml [Catatan Siapkan larutan ini segera sebelum disuntikkan ke dalam kromatograf.]

*Larutan uji 2* (pada etiket dinyatakan jumlah Rifampisin dalam sejumlah tertentu volume larutan konsitusi); rekonstitusi *Rifampisin untuk injeksi* dalam sejumlah volume air yang diukur saksama, sesuai dengan volume pengencer yang tertera pada etiket. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 2 jam setelah pembuatan.] Encerkan sejumlah volume yang diukur saksama dengan *asetonitril P* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml. [Catatan Gunakan larutan induk ini dalam waktu 5 jam setelah pembuatan.] Pipet 10 ml larutan induk ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda dan campur. [Catatan Siapkan larutan ini segera sebelum disuntikkan ke dalam kromatograf.]

**Prosedur** Lakukan *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Rifampisin*. Hitung jumlah dalam mg rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  yang dikeluarkan dari wadah atau dalam larutan konstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Rifampisin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku* dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; *L* adalah jumlah rifampisin yang tertera pada etiket dalam mg, dalam wadah atau dalam volume larutan konstitusi yang digunakan; *D* adalah kadar dalam mg per ml rifampisin dalam *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah untuk *Padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

## KAPSUL RIFAMPISIN DAN ISONIAZID Rifamycin and Isoniazid Capsule

Kapsul Rifampisin dan Isoniazid mengandung  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% dan mengandung  $C_6H_7N_3O$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. [Catatan Jika Kapsul Rifampisin dan Isoniazid dituliskan dalam resep tanpa keterangan jumlah Rifampisin dan Isoniazid, maka sediaan mengandung 300 mg Rifampisin dan 150 mg Isoniazid.]

**Baku pembanding** *Rifampisin BPFi*; tidak boleh dikeringkan; lakukan *Penetapan Susut Pengeringan* <1121> pada sebagian zat, saat akan digunakan. Hindari paparan oksigen. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Isoniazid BPFi*; keringkan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Larutan uji* Masukkan sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 120 mg rifampisin ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 20 ml *metanol P* dan kocok beberapa menit. Saring suspensi melalui penyaring dengan porositas 1 µm atau lebih kecil, buang beberapa ml filtrat pertama. Encerkan filtrat dengan *aseton P* volume sama dan campur.

*Larutan baku* Larutkan sejumlah *Rifampisin BPFi* dalam *metanol P* hingga kadar 6 mg per ml. Tambahkan *aseton P* volume sama dan campur. Larutkan sejumlah *Isoniazid BPFi* dalam *metanol P* hingga kadar 2,5 mg per ml. Tambahkan *aseton P* volume sama dan campur.

*Volume penotolan* 2 µl.

*Fase gerak* Buat campuran *aseton P-asam asetat glisial P* (100:1).

B. Waktu retensi puncak utama rifampisin dan isoniazid dalam kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi:* 900 ml asam klorida 0,1 N.

*Alat tipe 1:* 100 rpm.

*Waktu:* 45 menit.

Lakukan penetapan jumlah  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  yang terlarut dengan metode sebagai berikut.

*Dapar fosfat* Larutkan 15,3 g kalium fosfat dibasa P dan 80,0 g kalium fosfat monobasa P dalam lebih kurang 500 ml air, diencerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Larutan baku isoniazid* Timbang saksama lebih kurang 66 mg Isoniazid BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan asam klorida 0,1 N sampai tanda.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 66 mg Rifampisin BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dalam 10 ml asam klorida 0,1 N dan campur. Tambahkan 50,0 ml Larutan baku isoniazid encerkan dengan asam klorida 0,1 N sampai tanda. [Catatan Siapkan larutan segera sebelum penetapan, dan tempatkan dalam tangas disolusi pada awal penetapan.]

*Larutan baku* Pada akhir penetapan, pipet 5 ml alikuot Larutan baku persediaan dan 10 ml Larutan dapar fosfat ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan air sampai tanda. [Catatan Jika mungkin larutan segera dianalisa, jika tidak dalam waktu 3 jam setelah pengenceran akhir.]

*Larutan uji* Pada akhir penetapan, pipet 25 ml alikuot dan saring, buang 10 ml filtrat pertama. Biarkan dingin selama lebih kurang 10 menit, dan pipet 5 ml filtrat dan 10 ml *Dapar fosfat* ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan air sampai tanda. [Catatan Jika mungkin larutan segera dianalisa, jika tidak dalam waktu 3 jam setelah pengenceran akhir.]

Lakukan penetapan jumlah Rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  yang terlarut dengan mengukur Larutan baku dan Larutan uji pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 475 nm.

Lakukan penetapan jumlah isoniazid ( $C_6H_7N_3O$ ) yang terlarut dengan menggunakan metode berikut.

*Fase gerak* Buat campuran air-*Dapar fosfat-metanol P* (850:100:50), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Sistem Kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1, ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) Larutan uji dan Larutan baku ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak isoniazid.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) Rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  dan tidak kurang dari 80% (Q) Isoniazid,  $C_6H_7N_3O$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Susut Pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 3,0%, lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara, pada suhu 60° selama 3 jam menggunakan lebih kurang 100 mg isi kapsul.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar* Larutkan 1,4 g natrium fosfat dibasa P dalam 1 liter air, atur pH hingga 6,8 dengan penambahan asam fosfat P.

*Larutan A* Buat campuran asetonitril P-*Dapar* (4:96), saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Buat campuran asetonitril P-*Dapar* (55:45) saring dan awaudarakan.

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Rifampisin BPF1 dan Isoniazid BPF1 dalam campuran *Dapar* dan metanol P (96:4) hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,16 dan 0,08 mg per ml. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 10 menit.]

*Larutan uji* Timbang saksama isi tidak kurang dari 10 kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul yang setara dengan lebih kurang 8 mg isoniazid, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml dan tambahkan lebih kurang 90 ml *Dapar*. Sonikasi selama lebih kurang 10 menit, biarkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *Dapar* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 2 jam.]

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi L1 yang dideaktivasi dengan basa dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi dengan program sebagai berikut :

Waktu (menit)	Larutan A(%)	Larutan B(%)	Eluasi
0	100	0	keseimbangan
0-5	100	0	isokratik
5-6	100→0	0→100	gradien linier
6-15	0	100	isokratik

Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; waktu retensi relatif rifampisin dan isoniazid berturut-turut lebih kurang 2,6 dan 1,0; efisiensi kolom rifampisin dan isoniazid berturut-turut tidak kurang dari 50.000 dan 6.000 lempeng teoritik, faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg rifampisin, ( $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ ), dan isoniazid, ( $C_6H_7N_3O$ ), dalam isi kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Rifampisin BPFi atau Isoniazid BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, dan hindari paparan panas yang berlebihan.

## TABLET RIFAMPISIN, ISONIAZID, DAN PIRAZINAMIDA

### Rifamycin, Isoniazid and Pyrazinamide Tablet

Tablet Rifampisin, Isoniazid dan Pirazinamida mengandung Rifampisin  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , Isoniazid  $C_6H_7N_3O$ , dan Pirazinamida  $C_5H_5N_3O$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Isoniazid BPFi**; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. **Pirazinamida BPFi**; lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. **Rifampisin BPFi**; tidak boleh dikeringkan, lakukan *Penetapan susut pengeringan* <1121> pada sebagian zat yang terpisah, saat akan digunakan. Hindari kontak dengan udara. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 120 mg rifampisin masukkan ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 20 ml *metanol P* dan kocok beberapa menit. Saring suspensi melalui penyaring dengan porositas  $1 \mu m$  atau lebih halus, buang beberapa ml filtrat pertama. Encerkan filtrat dengan *aseton P* dalam volume sama, campur.

**Larutan baku** Larutkan sejumlah Rifampisin BPFi dalam *metanol P* hingga kadar 6 mg per ml. Tambahkan *aseton P* dalam volume sama, dan campur. Larutkan sejumlah Isoniazid BPFi dalam *metanol P* hingga kadar 2,5 mg per ml. Tambahkan *aseton P* dalam jumlah sama, dan campur. Larutkan sejumlah Pirazinamida BPFi dalam *metanol P* hingga kadar 15 mg per ml. Tambahkan *aseton P* dalam volume sama, dan campur.

**Volume Penotolan** 2  $\mu l$ .

**Fase gerak** Buat campuran *aseton P-asam asetat glasial P* (100:1).

B. Waktu retensi puncak utama rifampisin, isoniazid, dan pirazinamida pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

**Media disolusi**: 900 ml cairan lambung buatan LP tanpa pepsin.

**Alat tipe I**: 100 rpm.

**Waktu**: 30 menit.

Tentukan jumlah  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  yang terlarut dengan metode sebagai berikut.

**Larutan baku persediaan** Buat larutan Isoniazid BPFi dan Pirazinamida BPFi dalam *Media disolusi* dengan kadar berturut-turut lebih kurang 0,22 mg dan 1,3 mg per ml. Gunakan larutan ini pada hari yang sama.

**Larutan baku antara** Timbang saksama lebih kurang 27 mg Rifampisin BPFi, masukan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan 50,0 ml *Larutan baku persediaan*, dan goyang sampai larut. Encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda. Masukkan labu ke dalam tangas disolusi segera sebelum dilakukan disolusi tablet. Angkat labu dari tangas bersamaan dengan dilakukannya pengambilan larutan.

**Larutan baku** Pipet 10 ml *Larutan baku antara* ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

**Larutan uji** Pipet 10 ml filtrat alikuot ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Media disolusi* sampai tanda.

**Prosedur** Secara berurutan ukur serapan ultraviolet pada panjang gelombang 475 nm dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Gunakan *Media disolusi* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , yang terlarut dengan rumus:

$$4500 C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar Rifampisin BPFi dalam mg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Toleransi** Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dan 80% (Q) rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

Tentukan jumlah isoniazid  $C_6H_7N_3O$  dan pirazinamida  $C_5H_5N_3O$  yang terlarut dengan metode berikut.

**Fase gerak** Buat campuran air-kalium fosfat monobasa 1 *M-asetonitril P* (860:100:40). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan kesesuaian sistem** Buat larutan asam isonikotinat P dengan kadar lebih kurang 0,125 mg per ml dalam *Media disolusi*. Pipet 10 ml larutan ini dan 4 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 15 ml kalium fosfat dibasa 1 M dan 30 ml *Fase gerak*. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Larutan baku** Pipet 15 ml *Larutan baku antara* ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 15 ml kalium fosfat dibasa 1 M dan 30 ml *Fase gerak*. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Gunakan larutan ini



dalam waktu 20 jam.

*Larutan uji* Ambil 60 ml aliquot, saring, buang 20 ml filtrat pertama. Sentrifus filtrat selama 5 menit. Pipet 15 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 15 ml kalium fosfat dibasa 1 M dan 30 ml Fase gerak. Encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Gunakan larutan ini dalam waktu 20 jam.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L44. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; waktu retensi relatif asam isonikotinat, pirazinamida dan isoniazid berturut-turut adalah lebih kurang 0,7; 1,0 dan 1,8 dan resolusi, *R*, antara puncak asam isonikotinat dan pirazinamida tidak kurang dari 2,5 dan antara pirazinamida dan isoniazid tidak kurang dari 4,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*. Simpangan baku relatif respons pirazinamida dan isoniazid pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah, dalam mg Isoniazid, C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O, yang terlarut dengan rumus:

$$6000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Isoniazid BPFi dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak isoniazid dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

Hitung jumlah dalam mg pirazinamida, C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O, yang terlarut dengan rumus yang sama, menggunakan Pirazinamida BPFi sebagai pengganti Isoniazid BPFi, dan pirazinamida sebagai pengganti isoniazid.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) isoniazid, C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O dan tidak kurang dari 75% (Q) pirazinamida, C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 3,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara, pada suhu 60° selama 3 jam menggunakan lebih kurang 100 mg tablet yang diserbukkan.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar* Larutkan 1,4 g kalium fosfat dibasa P dalam 1 liter air, atur pH hingga 6,8 dengan penambahan asam fosfat P.

*Larutan A* Buat campuran *Dapar-asetonitril P* (96:4) saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Buat campuran *Dapar-asetonitril P* (45:55) saring dan awaudarakan.

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Rifampisin BPFi, Isoniazid BPFi dan Pirazinamida BPFi larutkan dalam campuran *Dapar-metanol P* (96:4) hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,16; 0,08 dan 0,43 mg per ml. [Catatan Gunakan larutan ini dalam 10 menit.]

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara lebih kurang 8 mg isoniazid, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml dan tambahkan lebih kurang 90 ml *Dapar*. Sonikasi selama lebih kurang 10 menit, biarkan mencapai keseimbangan pada suhu ruang, encerkan dengan *Dapar* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 2 jam.]

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi L1 yang dideaktivasi dengan basa, dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi yang diprogram seperti tabel berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0	100	0	Keseimbangan
0-5	100	0	Isokratik
5-6	100→0	0→100	Gradien linier
6-15	0	100	Isokratik

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; waktu retensi relatif rifampisin, isoniazid dan pirazinamida berturut-turut adalah lebih kurang 1,8, 0,7 dan 1,0 dan resolusi, *R*, antara puncak isoniazid dan pirazinamida tidak kurang dari 4; efisiensi kolom untuk rifampisin, isoniazid dan pirazinamida berturut-turut tidak kurang dari 50.000, 6.000 dan 10.000 lempeng teoritis, faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg rifampisin, C<sub>43</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, isoniazid, C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O, dan pirazinamida, C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Rifampisin BPFi, dalam mg per ml yang

dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, atau Isoniazid BPFi atau Pirazinamida BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, dan pada suhu ruang terkendali.

**TABLET RIFAMPISIN, ISONIAZID, PIRAZINAMIDA DAN ETAMBUTOL HIDROKLORIDA**

**Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Hydrochloride tablet**

Tablet Rifampisin, Isoniazid, Pirazinamida dan Etambutol Hidroklorida mengandung Rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , Isoniazid,  $C_6H_7N_3O$ , Pirazinamida,  $C_5H_5N_3O$  dan Etambutol Hidroklorida,  $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Etambutol Hidroklorida BPFi;** lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. **Isoniazid BPFi;** lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. **Pirazinamida BPFi;** lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. **Rifampisin BPFi;** tidak boleh dikeringkan, lakukan Penetapan susut pengeringan <1121> pada sebagian zat yang terpisah, saat akan digunakan. Hindari kontak dengan udara. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dan di tempat dingin.

**Identifikasi**

A. Waktu retensi puncak utama rifampisin, isoniazid, dan pirazinamida pada kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar Rifampisin, Isoniazid dan Pirazinamida.

B. Waktu retensi puncak utama etambutol Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan Kadar Etambutol Hidroklorida.

**Disolusi < 1231>**

Dapar natrium fosfat 10 mM pH 6,8 Larutkan 7 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dalam 5 liter air, atur pH hingga 6,8 dengan penambahan asam fosfat P.

Media disolusi: 900 ml dapar natrium fosfat 10 M pH 6,8.

Alat tipe 2: 100 rpm.

Waktu : 45 menit.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah rifampisin  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , isoniazid  $C_6H_7N_3O$ , pirazinamida  $C_5H_5N_3O$  dan etambutol hidroklorida  $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$  yang terlarut menggunakan alikuot dan menggunakan prosedur seperti tertera pada Penetapan Kadar Rifampisin,

Isoniazid dan Pirazinamida, dan Penetapan Kadar Etambutol Hidroklorida.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) rifampisin,  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , isoniazid,  $C_6H_7N_3O$ , pirazinamida,  $C_5H_5N_3O$  dan etambutol hidroklorida  $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 3%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara, pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg tablet yang diserbukkan.

**Penetapan kadar Rifampisin, Isoniazid dan Pirazinamida** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Dapar fosfat** Larutkan 1,4 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dalam 1 liter air, atur pH hingga 6,8 dengan penambahan asam fosfat P.

**Larutan A** Buat campuran Dapar fosfat-asetonitril P (96:4), saring dan awaudarakan.

**Larutan B** Buat campuran asetonitril P-Dapar fosfat (55:45), saring dan awaudarakan.

**Fase gerak** Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada Sistem Kromatografi jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Rifampisin BPFi, Isoniazid BPFi dan Pirazinamida BPFi, larutkan dalam campuran Dapar fosfat-metanol P (96:4) hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,16 ; 0,08 dan 0,43 mg per ml. [Catatan Gunakan larutan ini dalam 10 menit.]

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 8 mg isoniazid, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml dan tambahkan lebih kurang 90 ml Dapar fosfat. Sonikasi selama lebih kurang 10 menit, biarkan mencapai kesetimbangan pada suhu ruang, encerkan dengan Dapar fosfat sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini dalam waktu 2 jam.]

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dideaktivasi dengan basa dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan Kromatografi yang diprogram seperti tabel berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0	100	0	kesetimbangan
0-5	100	0	isokratik
5-6	100→0	0→100	gradien linier
6-15	0	100	isokratik

Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur; waktu retensi relatif rifampisin, isoniazid

dan pirazinamida berturut-turut adalah lebih kurang 1,8; 0,7 dan 1,0; dan resolusi, *R*, antara puncak isoniazid dan pirazinamida tidak kurang dari 4; efisiensi kolom untuk rifampisin, isoniazid dan pirazinamida berturut-turut adalah tidak kurang dari 50.000, 6000 dan 10.000 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg rifampisin, C<sub>43</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, isoniazid, C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O, dan pirazinamida, C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar baku pembandingan dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar Etambutol hidroklorida** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Larutkan 1,4 g natrium fosfat dibasa anhidrat *P* dalam 1 liter air, atur pH hingga 6,8 dengan penambahan asam fosfat *P*.

*Dapar trietilamin* Campur 1,0 ml trietilamin *P* dan 1 liter air, atur pH hingga 7,0 dengan penambahan asam fosfat *P*.

*Fase gerak* Buat campuran asetonitril *P-Dapar trietilamin* (50:50), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Etambutol Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,3 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 30 mg etambutol hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 90 ml *Pengencer*. Sonikasi selama lebih kurang 10 menit, biarkan mencapai kesetimbangan pada suhu ruang, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Saring, buang 10 ml filtrat pertama.

*Sistem Kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 200 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L10* dideaktivasi dengan basa, ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 3; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*

ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg etambutol hidroklorida, C<sub>10</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·2HCl, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Etambutol Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, pada suhu ruang terkendali.

## RIMPANG PODOFILI Podophylli Root

Rimpang Podofili adalah rimpang dan akar kering *Podophyllum peltatum* Linne (Familia Berberidaceae), mengandung tidak kurang dari 5,0% resin podofilin.

**Makroskopik** Terdiri dari rimpang berbentuk hampir silindris, bergabung termampat atau rata pada permukaan atas dan bawah, kadang-kadang bercabang. Potongan rimpang panjang sampai 20 cm, dengan bintik-bintik berdiameter 2 mm sampai 9 mm, beberapa bintik agak menebal. Rimpang berwarna merah sampai cokelat kekuningan terang, berkeriput membujur atau hampir rata, dengan bekas tempat sisik daun yang tidak beraturan atau berbentuk-V; beberapa bintik melingkar, bagian atasnya mempunyai bekas tempat duduk batang dan tunas atau dasar batang yang lebar dan bundar. Pada bagian yang lebih bawah terdapat bekas tempat akar atau akar dengan panjang 2 cm sampai 7 cm dan tebal 2 mm. Patahan pendek dan lunak, permukaan patahan berwarna jingga kekuningan sampai kuning pucat atau putih abu-abu.

**Mikroskopik rimpang** Bagian luar rimpang terdiri dari epidermis berwarna cokelat yang sering terlihat rusak dan 1 sampai 3 lapis sel gabus berwarna cokelat sampai hijau pudar; korteks selebar lebih kurang 20 lapis sel, berupa sel-sel yang hampir isodiametrik, berisi butir pati tunggal atau majemuk, dan resin serta hablur kalsium oksalat bentuk roset pada sel yang tersebar dari bintik-bintik rimpang; lingkaran 16 sampai 34 berkas pengangkut kolateral terbuka dipisahkan oleh deretan sel yang agak lebar, tiap berkas pengangkut mempunyai beberapa pembuluh yang berlignin, kambium yang kadang-kadang tidak mudah dikenal dan lapisan floem yang agak lebar. Empulur dengan sel-sel yang agak bulat dan berisi butir pati serta resin yang berwarna cokelat kemerahan. Akar terdiri dari lapisan epidermis dengan sel yang bergabus berwarna kecokelatan dan selapis sel hipodermis; korteks yang lebar dengan sel hampir isodiametrik, ber dinding tipis; endodermis mudah dikenal dengan sel memanjang

tangensial, dengan penebalan yang seragam; berkas pengangkut 4 sampai 7 deret.

**Mikroskopik serbuk** Serbuk berwarna coklat pucat sampai kuning lemah. Bau lemah, rasa pahit tidak enak. Banyak butir pati tunggal atau majemuk, butir pati majemuk tersusun dari 2 sampai 6 butir, butir pati tunggal berbentuk bulat, cembung datar sampai cembung bersudut, atau poligonal, berdiameter sampai 20 µm; kadang-kadang terdapat hablur kalsium oksalat bentuk roset, diameter sampai 80 µm; pembuluh dengan penebalan bentuk noktah sederhana atau bentuk jala; fragmen sel-sel parenkim pati dan resin dan sel gabus berwarna coklat kemerahan sampai kuning.

**Abu tidak larut dalam asam** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Pengambilan Contoh dan Metode Analisis Simplisia* <671>.

**Bahan organik asing** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Pengambilan Contoh dan Metode Analisis Simplisia* <671>.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 10 g rimpang yang telah diserbuk halus, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 125 ml, tambahkan 35 ml *etanol P* dan refluks di atas tangas uap selama 3 jam. Pindahkan campuran ke dalam perkolator kecil; lakukan perkolasi perlahan-lahan dengan *etanol P* hangat hingga diperoleh 95 ml perkolat. Dinginkan, tambah *etanol P* secukupnya hingga diperoleh 100,0 ml perkolat; campur. Pipet 10 ml perkolat ke dalam corong pisah kedua; cuci lapisan asam tiga kali dengan 15 ml campuran *kloroform P-etanol P* (2:1), tuangkan cairan pencuci ke dalam corong pisah kedua. Tambahkan 10 ml larutan *asam klorida P* (7 dalam 500) ke dalam campuran, kocok dan biarkan memisah, pindahkan lapisan kloroform ke dalam labu yang telah ditara. Cuci lapisan asam tiga kali, tiap kali dengan 15 ml campuran *kloroform P-etanol P* (2:1) masukkan cairan pencuci ke dalam labu di atas. Uapkan campuran di atas tangas uap hingga lebih kurang 1 ml, tambahkan 5 ml *etanol mutlak P*, uapkan lagi hingga kering. Keringkan residu pada suhu 80° selama 4 jam: bobot residu adalah bobot resin dalam 1 g rimpang yang ditetapkan.

## INJEKSI RINGER Ringer Injection

Injeksi Ringer adalah larutan steril dari Natrium Klorida, Kalium Klorida, dan Kalsium Klorida dalam *Air untuk Injeksi*; tiap 100 ml mengandung tidak kurang dari 323,0 mg dan tidak lebih dari 354,0 mg natrium (Na, setara dengan tidak kurang dari 820,0 mg dan tidak lebih dari 900,0 mg sebagai NaCl), tidak kurang dari 14,9 mg dan tidak lebih dari 16,5 mg kalium (K, setara dengan tidak kurang 28,5 mg dan tidak lebih dari 31,5 mg KCl), tidak kurang dari 8,20 mg dan tidak lebih dari 9,80 mg kalsium (Ca, setara dengan tidak kurang dari 30,0 mg dan tidak

lebih 36,0 mg  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), dan tidak kurang dari 523,0 mg dan tidak lebih dari 580,0 mg klorida (Cl, sebagai NaCl, KCl dan  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), Injeksi Ringer tidak boleh mengandung bahan antimikroba.

[*Catatan Injeksi Ringer mengandung ion kalsium, klorida, kalium dan natrium berturut-turut setara dengan lebih kurang 4,5; 156; 4 dan 147,5 miliekuivalen per liter. Larutkan 8,6 g natrium klorida; 300 mg kalium klorida dan 330 mg kalsium klorida dalam Air untuk Injeksi hingga 1000 ml, saring hingga jernih, masukkan dalam wadah yang sesuai dan sterilkan.*]

**Baku pembanding Endotoksin BPFI**; [*Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi seluruh isi; gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Identifikasi Untuk Natrium, dan Kalium** dengan reaksi nyala; untuk *Kalsium* dengan reaksi amonium oksalat; untuk *Klorida* dengan reaksi *Klorida* cara A, B, atau C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>

**Endotoksin bakteri** <201> Mengandung tidak lebih dari 0,5 unit Endotoksin FI per ml.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 7,5.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 0,3 bpj; lakukan penetapan dengan menguapkan 67 ml hingga lebih kurang 20 ml, tambahkan 2 ml *asam asetat 1 N* dan encerkan dengan air hingga 25 ml.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar kalsium** [*Catatan Kadar larutan baku dan larutan uji dapat dimodifikasi untuk memperoleh kurva spektrofotometer serapan atom.*]

*Larutan lantanum klorida* Masukkan 17,69 g lantanum klorida ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan 1 ml air, dan tambahkan hati-hati 50 ml *asam klorida P*, campur dan biarkan dingin, encerkan dengan air sampai tanda.

*Enceran asam klorida* Buat campuran 6,75 ml *asam klorida P* dengan air hingga 3000 ml.

*Larutan blanko* Pipet 5 ml *Larutan lantanum klorida* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Enceran asam klorida* sampai tanda.

*Larutan persediaan kalsium* Masukkan 499,5 mg kalsium karbonat baku primer ke dalam labu tentukur 200-ml, dan tambahkan 10 ml air. Tambahkan hati-hati 5 ml *Enceran asam klorida*, goyang sampai kalsium karbonat larut, encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung kalsium, Ca 1000 µg per ml.

*Larutan baku* Ke dalam 3 labu tentukur 100-ml masing-masing berisi 5,0 ml *Larutan lantanum klorida*, pipet 1 ml; 1,5 ml; 2 ml *Larutan persediaan kalsium*. Encerkan tiap labu dengan *Enceran asam klorida* sampai

tanda. Masing-masing larutan mengandung kalsium, Ca, 10,0 µg; 15,0 µg; dan 20,0 µg per ml.

*Larutan uji* Pipet 20 ml *Injeksi Ringer* setara dengan lebih kurang 1,8 mg kalsium, Ca, ke dalam labu tentukur 100-ml berisi 5,0 ml *Larutan lantanum klorida*, encerkan dengan *Enceran asam klorida* sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada garis emisi kalsium pada 422,7 nm, dengan spektrofotometer serapan atom yang dilengkapi dengan lampu tabung katode kalsium dan nyala asetilen udara, terhadap blangko. Gambarkan kurva dari serapan larutan baku terhadap kadar kalsium dalam µg per ml, dengan menghubungkan 3 titik. Hitung kadar kalsium dalam mg per 100 ml injeksi yang digunakan, dengan rumus:

$$0,5(C)$$

C adalah kadar kalsium dalam µg per ml *Larutan uji*.

#### Penetapan kadar kalium

*Larutan baku persediaan* Timbang 190,7 mg kalium klorida P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, larutkan dalam 50 ml air, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 100 µg kalium.

*Larutan baku* Larutkan 1,093 g natrium klorida P ke dalam 100,0 ml air, masukkan masing-masing 10,0 ml larutan ini ke dalam 5 labu tentukur 100-ml berisi 10,0 ml larutan bahan pembasah nonionik yang sesuai (1 dalam 500). Pada salah satu labu, tambahkan dengan air sampai tanda, dan gunakan sebagai blangko. Ke dalam 4 labu lain masukkan berturut-turut 5,0 ml; 10,0 ml; 15,0 ml dan 20,0 ml *Larutan baku persediaan*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Pipet 10 ml *Injeksi Ringer* ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10,0 ml larutan bahan pembasah nonionik yang sesuai (1 dalam 500), encerkan dengan air sampai tanda.

*Kurva baku* Atur fotometer nyala hingga transmitans maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 766 nm dan transmitans nol menggunakan blangko kemudian transmitans 100% menggunakan *Larutan baku* yang paling pekat. Ukur transmitans semua *Larutan baku* dan buat kurva transmitans terhadap kadar kalium.

*Prosedur* Atur alat seperti tertera pada *Kurva baku*, ukur transmitans *Larutan uji* dan hitung kadar kalium dalam mg per 100 ml injeksi.

#### Penetapan kadar natrium

*Larutan baku persediaan* Timbang 254,2 mg natrium klorida P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, larutkan dalam 50 ml air, masukkan dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 100 µg natrium.

*Larutan baku* Masukkan masing-masing 10,0 ml larutan bahan pembasah nonionik yang sesuai (1 dalam 500) ke dalam 5 labu tentukur 100-ml. Pada salah satu labu, tambahkan air sampai tanda dan gunakan sebagai

larutan blangko. Ke dalam 4 labu lain berturut-turut masukkan 5,0 ml; 10,0 ml; 15,0 ml dan 20,0 ml *Larutan baku persediaan*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Pipet 5 ml *Injeksi Ringer* ke dalam labu tentukur 1000-ml berisi 100,0 ml larutan bahan pembasah nonionik yang sesuai (1 dalam 500), encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kurva baku* dan *Prosedur* dalam *Penetapan kadar kalium*, atur fotometer nyala hingga transmitans maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 589 nm. Hitung kadar natrium dalam mg per 100 ml injeksi.

**Penetapan kadar klorida** Pipet 10 ml *Injeksi Ringer* ke dalam wadah porselen, tambahkan 140 ml air dan 1 ml *diklorofluorescein LP* dan campur. Titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV* hingga perak klorida menggumpal dan campuran berubah menjadi merah muda lemah.

*Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 3,545 mg Cl*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah kaca atau plastik dosis tunggal, sebaiknya dari kaca Tipe I atau Tipe II.

### INJEKSI RINGER LAKTAT Ringer Lactate Injection

Injeksi Ringer Laktat adalah larutan steril dari Kalsium Klorida, Kalium Klorida, Natrium Klorida dan Natrium Laktat dalam *Air untuk Injeksi*; tiap 100 ml mengandung tidak kurang dari 285,0 mg dan tidak lebih dari 315,0 mg natrium (sebagai NaCl dan C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>3</sub>), tidak kurang dari 14,1 mg dan tidak lebih dari 17,3 mg kalium (K, setara dengan tidak kurang 27,0 mg dan tidak lebih dari 33,0 mg KCl), tidak kurang dari 4,90 mg dan tidak lebih dari 6,00 mg kalsium (Ca, setara dengan tidak kurang dari 18,0 mg dan tidak lebih dari 22,0 mg CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O), tidak kurang dari 368,0 mg dan tidak lebih dari 408,0 mg klorida (Cl, sebagai NaCl, KCl dan CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O), dan tidak kurang dari 231,0 mg dan tidak lebih dari 261,0 mg laktat (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>, setara dengan tidak kurang dari 290,0 mg dan tidak lebih dari 330,0 mg C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>3</sub>). Injeksi Ringer Laktat tidak boleh mengandung bahan antimikroba.

[*Catatan Injeksi Ringer Laktat mengandung kalsium, kalium dan natrium berturut-turut lebih kurang 2,7; 4 dan 130 miliekuivalen per liter.*]

**Baku pembanding** *Natrium Laktat BPF*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam sebelum digunakan. *Endotoksin BPF*; [*Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi seluruh isi; gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Menunjukkan reaksi nyala yang tertera pada *Natrium* dan *Kalium*, reaksi *Amonium Oksalat* yang tertera pada *Kalsium* dan reaksi *Klorida* cara A, B, dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

B. Waktu retensi puncak laktat *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar laktat*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,5 unit Endotoksin FI per ml.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 7,5.

**Logam berat** <371> Tidak kurang dari 0,3 bpj; lakukan penetapan dengan menguapkan 67 ml hingga volume lebih kurang 20 ml, tambahkan 2 ml asam asetat 1 N dan encerkan dengan air hingga 25 ml.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar kalsium** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar kalsium* dalam *Injeksi Ringer*.

**Penetapan kadar kalium** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar kalium* dalam *Injeksi Ringer*.

**Penetapan kadar natrium** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar natrium* dalam *Injeksi Ringer*.

**Penetapan kadar klorida** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar klorida* dalam *Injeksi Ringer*.

**Penetapan kadar laktat** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat larutan dalam air mengandung lebih kurang 1 ml *asam format P* dan 1 ml *disikloheksilamin P* per liter, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan resolusi* Buat larutan dalam air mengandung lebih kurang 3 mg *natrium asetat anhidrat P* dan 3 mg *Natrium Laktat BPFi* per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Natrium Laktat BPFi*, larutkan dalam air sehingga diperoleh larutan persediaan hingga kadar 10 mg per ml. Encerkan saksama secara kuantitatif dan bertahap larutan persediaan ini dengan air hingga diperoleh kadar lebih kurang 1 mg, 2 mg, dan 4 mg *Natrium Laktat BPFi* per ml.

*Larutan uji* Gunakan *Injeksi Ringer Laktat* yang sudah diencerkan.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Kromatograf cair kinerja tinggi*

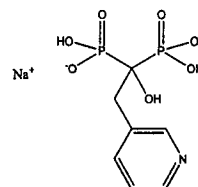
dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara puncak asetat dan laktat tidak kurang dari 2. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: faktor ikutan puncak analit* tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Buat kurva respons puncak *Larutan baku* terhadap kadar, dalam mg *Natrium Laktat BPFi* per ml, dan gambar garis lurus dari tiga titik. Dari kurva yang diperoleh, ukur kadar natrium dalam mg per ml laktat dalam *Larutan uji*.

Tiap ml asam sulfat 0,1 N  
setara dengan 8,907 mg C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah kaca atau plastik dosis tunggal, sebaiknya dari kaca Tipe I atau Tipe II.

## RISEDRONAT NATRIUM Risedronate Sodium



*Asam fosfonat, [1-hidroksi-2-(3-piridinil)etiliden]bis*  
C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>NNaO<sub>7</sub>P<sub>2</sub> BM 305,09  
*Natrium trihidrogen [1-hidroksi-2-(3-piridinil) etiliden] difosfonat*  
Hemipentahidrat [329003-65-8] BM 350,13  
Monohidrat [353228-19-0] BM 323,12

Risedronat Natrium mengandung satu atau dua dan setengah molekul hidrasi. Bentuk monohidrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>NNaO<sub>7</sub>P<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang dikeringkan.

Bentuk hemi-pentahidrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>NNaO<sub>7</sub>P<sub>2</sub>, dihitung terhadap bentuk anhidrat.

**Baku pembanding** *Risedronat Natrium BPFi, Senyawa Sejenis A Risedronat BPFi, Senyawa Sejenis B Risedronat BPFi.*

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam polimer trifluorovinil klorida dan minyak mineral P, menunjukkan maksimum berturut-turut pada daerah 4000 sampai 1350 cm<sup>-1</sup> dan 1350 sampai 450 cm<sup>-1</sup>, hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Risedronat Natrium BPF1. [Catatan Bila terjadi perbedaan spektrum inframerah antara analit dan pembanding, larutkan sejumlah sama zat dan baku pembanding FI dalam sejumlah volume air yang sama mengandung lebih kurang 50 mg kalium bromida P per ml. Uapkan larutan sampai kering pada suhu 105° selama 120 menit. Ulangi pengujian pada residu.]

B. Memenuhi syarat uji reaksi nyala Natrium seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <191>.

Air <1031> Metode 1c Antara 11,9% dan 13,9%. [Jika pada etiket tertera sebagai hemipentahidrat]

Susut pengeringan <1121> [Jika pada etiket tertera sebagai monohidrat] Lakukan seperti tertera pada Analisis termal <741>. Tetapkan persentase penguapan bahan secara analisis termografimetri dengan alat yang sudah terkalibrasi, timbang saksama lebih kurang 7-15 mg risedronat natrium. Panaskan dengan kecepatan 10° per menit dengan mengalirkan nitrogen P dengan laju alir lebih kurang 40 ml per menit. Rekam termogram pada suhu ruang sampai 250°: pengurangan berat antara 5,5% dan 7,5% dari bobot asal.

Logam berat <371> Tidak lebih dari 20 bpj.

Larutan timbal nitrat Tambahkan 1 ml asam nitrat P ke dalam 100 ml air. Larutkan 100 mg timbal nitrat P ke dalamnya, dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

Larutan natrium bikarbonat Masukkan 0,840 g natrium bikarbonat P ke dalam labu tentukur 1000-ml yang berisi lebih kurang 950 ml air, larutkan dan encerkan sampai tanda. Atur pH hingga 4,40±0,02 dengan penambahan natrium hidroksida 0,1 N atau asam klorida 0,1 N.

Larutan hidrogen sulfida Masukkan 200 ml larutan natrium bikarbonat P ke dalam Erlenmeyer yang sesuai, dan alirkan gas hidrogen sulfida ke dalam larutan sampai terbentuk garis berwarna hitam pada kertas uji timbal asetat.

Larutan baku Masukkan lebih kurang 500 mg risedronat natrium ke dalam masing-masing 3 gelas piala, tambahkan 40 ml air ke dalam masing-masing gelas piala dan aduk hingga larut. Atur pH hingga 4,40±0,02 dengan penambahan natrium hidroksida 0,1 N atau asam klorida 0,1 N. Tandai gelas piala pertama sebagai Larutan baku 1. Masukkan 200 µl Larutan timbal nitrat ke dalam gelas piala kedua (Larutan baku 2) dan 400 µl ke dalam gelas piala ke tiga (Larutan baku 3). Semua larutan ini setara dengan 0 µg; 12,5 µg dan 25 µg timbal (atau berturut-turut 0 bpj, 10 bpj dan 20 bpj).

Larutan uji Masukkan 1,75 g zat ke dalam gelas piala yang sesuai. Tambahkan 40 ml air, aduk sampai larut.

Atur pH hingga 4,40 ± 0,02 dengan penambahan natrium hidroksida 0,1 N atau asam klorida 0,1 N.

Prosedur Tambahkan 7 ml Larutan hidrogen sulfida ke dalam masing-masing gelas piala yang berisi Larutan baku dan Larutan uji. Biarkan larutan selama 5 menit. Tambahkan 60 µl asam klorida 1 N ke dalam masing-masing gelas piala yang berisi Larutan baku, tambahkan 200 µl asam klorida 1 N ke dalam gelas piala yang berisi Larutan uji, aduk. Pindahkan larutan ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, dan lihat di atas permukaan putih; warna larutan yang diperoleh dari Larutan uji tidak boleh lebih gelap dibandingkan larutan dari Larutan baku 3.

Senyawa sejenis Total cemaran (Uji 1 dan Uji 2) tidak lebih dari 0,50%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>. [Catatan Lakukan Uji 1 dan Uji 2]

UJI 1 Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,10%. Fase gerak, Larutan baku, Larutan uji Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Enceran larutan baku Encerkan satu bagian Larutan baku dengan Fase gerak hingga kadar natrium risedronat anhidrat dan senyawa sejenis A risedronat berturut-turut lebih kurang 5 µg dan 0,5 µg per ml.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara puncak senyawa sejenis A risedronat dan risedronat tidak kurang dari 2,3; faktor ikutan untuk puncak risedronat tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif untuk puncak risedronat pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 1,0%. Lakukan kromatografi terhadap Enceran larutan baku dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif untuk puncak senyawa sejenis A risedronat pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 15%.

Tabel

Nama	Faktor Respons Relatif (F)	Waktu Retensi Relatif
3-Asam asetat piridil	1,65	0,08
2-Isomer piridinil (Senyawa Sejenis A Risedronat BPF1)	1,0	0,81
Risedronat natrium	-	1,0

<sup>1</sup>[1-Hidroksi-2-(2-piridinil)etiliden]bis(asam fosfonat monohidrat)

Prosedur Suntikkan secara terpisah volume sama (lebih kurang 20 µl) masing-masing Enceran larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, identifikasi senyawa seperti tertera pada Tabel, dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

F adalah faktor respons relatif yang tertera pada Tabel;  $C_s$  adalah kadar Risedronat Natrium BPFi dalam mg per ml Enceran larutan baku;  $C_U$  adalah kadar risedronat natrium dalam mg per ml Larutan uji; dan  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; dan  $r_s$  adalah respons puncak risedronat natrium dari Enceran larutan baku. Abaikan setiap puncak yang sama dengan blangko dan kurang dari 0,05%.

UJI 2 Senyawa sejenis B risedronat tidak lebih dari 0,10%; masing-masing cemaran lain tidak lebih dari 0,10%.

Fase gerak Timbang 16,15 g kalium fosfat dibasa P dan 0,46 g dinatrium edetat P masukkan ke dalam gelas piala 1000 ml, dan larutkan dalam lebih kurang 400 ml air. Tambahkan 1 vial larutan dapar tetrabutylamonium dihidrogen fosfat dalam metanol dan 1 ml asam klorida P. Atur pH hingga 7,5±0,1 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N atau asam klorida 1 N, dan encerkan dengan air hingga 480 ml. Tambahkan 20 ml metanol P, campur dengan baik, saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45 µm, awadarakan.

Pengencer Timbang 0,46 g dinatrium edetat P masukkan ke dalam gelas piala 1000 ml dan larutkan dalam 500 ml air. Atur pH hingga 7,5±0,1 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N.

Larutan baku Timbang sejumlah Senyawa Sejenis B Risedronat BPFi, larutkan dalam Pengencer hingga kadar lebih kurang 5 µg per ml. [Catatan Senyawa Sejenis B Risedronat BPFi adalah senyawa siklik dimer, garam dinatrium tetrahidrat (3,6-bis[(3-piridinil) metil]-2,5-dihidroksi-2,5-dioksido-1,4,2,5-dioksadifosforinan -3,6-diil]bis[asam fosfonat] garam dinatrium tetrahidrat).]

Enceran larutan baku Encerkan Larutan baku dengan Pengencer hingga kadar senyawa sejenis B risedronat lebih kurang 0,5 µg per ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 µg zat masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dengan Pengencer, jika perlu lakukan sonikasi, dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 263 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: faktor kapasitas,  $k'$ , adalah lebih besar dari 2; faktor ikutan tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 5%. Lakukan kromatografi terhadap Enceran larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif senyawa sejenis B risedronat pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 10%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak. Abaikan semua puncak yang tereluasi sebelum senyawa sejenis B risedronat. [Catatan

Puncak risedronat dieluasi tidak tertahan pada "void volume".] Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{530,20}{646,22} \right) \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

530,20 dan 646,22 berturut-turut adalah bobot molekul senyawa sejenis B risedronat sebagai asam bebas dan sebagai garam dinatrium tetrahidrat;  $C_s$  adalah kadar Senyawa Sejenis B Risedronat BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $C_U$  adalah kadar risedronat natrium dalam mg per ml Larutan uji;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; dan  $r_s$  adalah respons puncak senyawa sejenis B risedronat dari Larutan baku. Abaikan setiap puncak yang sama dengan blangko dan kurang dari 0,05%.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Timbang 1,8 g dinatrium edetat P, larutkan dalam 1000 ml air, dan atur pH hingga 9,5±0,1 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Risedronat Natrium BPFi dan Senyawa Sejenis A Risedronat BPFi larutkan dalam Fase gerak hingga kadar risedronat natrium anhidrat dan senyawa sejenis A risedronat berturut-turut lebih kurang 1,0 mg per ml dan 0,1 mg per ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 55,0 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 263 nm dan kolom 25 cm x 4,0 mm yang berisi bahan pengisi L48 dengan ukuran partikel 10 µm, laju alir lebih kurang 0,8 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara puncak risedronat dan senyawa sejenis A risedronat tidak kurang dari 2,3; faktor ikutan untuk puncak risedronat tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif untuk puncak risedronat pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 1,0 %.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase risedronat natrium,  $C_7H_{10}NNaO_7P_2$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar Risedronat Natrium BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $C_U$  adalah kadar risedronat natrium



dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan simpan pada suhu ruang.

**Penandaan** Pada etiket dicantumkan monohidrat atau hemipentahidrat.

## TABLET RISEDRONAT NATRIUM Risedronate Sodium Tablet

Tablet Risedronat Natrium mengandung Risedronat Natrium,  $C_7H_{10}NNaO_7P_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Risedronat Natrium BPF1, Senyawa Sejenis A Risedronat BPF1; 2-piridinil isomer [1-hidroksi-2-(2-piridinil)etiliden]bis(asam fosfonat) monohidrat,  $C_7H_{11}NO_7P_2$ , Senyawa Sejenis C Risedronat BPF1; [2-(3-piridinil)etiliden-1,1]bis(asam fosfonat)],  $C_7H_{11}NO_6P_2$ .*

### Identifikasi

A. *Larutan uji* Masukkan sejumlah tablet, setara dengan lebih kurang 50-75 mg risedronat natrium ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 10 ml air, dan kocok. Mula-mula saring melalui kertas saring yang sesuai dan kemudian melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45  $\mu m$ . Tambahkan 10 ml larutan tembaga(II) klorida 0,2 M, campur dengan baik, dan diamkan larutan selama 10 menit. Tambahkan 2 ml etanol mutlak P campur, dan biarkan larutan tidak kurang dari 1 jam, sampai terbentuk endapan kompleks tembaga yang berwarna biru. Kumpulkan endapan dengan penyaring nilon dengan porositas 0,45  $\mu m$ , cuci dengan 10 ml etanol mutlak P, dan biarkan kering di atas penyaring. [Catatan Keringkan endapan pada suhu ruang; jangan dipanaskan. Perubahan warna (dari biru ke hijau) dapat terlihat pada pengeringan.]

*Larutan baku* Timbang lebih kurang 50 mg Risedronat Natrium BPF1, larutkan dalam 10 ml air, dan saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45  $\mu m$ . Lakukan seperti pada *Larutan uji*, dimulai dari "tambahkan 10 ml larutan tembaga(II) klorida" Spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Risedronat Natrium BPF1.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

### Disolusi <1231>

Untuk Tablet 5 mg sampai 35 mg.

*Media disolusi:* 500 ml air.

*Alat tipe 2:* 50 rpm, dayung dilapisi teflon.

*Waktu:* 30 menit.

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Risedronat Natrium BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai dan encerkan dengan *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Encerkan larutan dengan *Media disolusi* hingga kadar lebih kurang 0,002 mg per ml x L, L adalah bobot tablet dalam mg yang tertera pada etiket.

*Larutan uji* Gunakan sejumlah alikuot yang telah disaring.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 263 nm dan kolom 5 cm x 4,0 mm yang berisi bahan pengisi L48 dengan ukuran partikel 10  $\mu m$ . Laju alir lebih kurang 0,8 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu l$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase risedronat natrium terlarut dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C_s}{L} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) 100$$

500 adalah volume dalam ml *Media disolusi*;  $C_s$  adalah kadar Risedronat Natrium BPF1 dalam mg per ml *Larutan baku*; L adalah jumlah risedronat natrium dalam mg per tablet yang tertera pada etiket;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*; 100 adalah faktor konversi terhadap persentase.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) risedronat natrium  $C_7H_{10}NNaO_7P_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

Untuk tablet 75 mg atau lebih.

*Media disolusi:* 900 ml air, awaudarkan.

*Alat tipe 2:* 50 rpm, dayung dilapisi dengan teflon

*Waktu:* 45 menit.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Risedronat Natrium BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai. Larutkan dan encerkan dengan *Media disolusi* hingga kadar risedronat natrium anhidrat lebih kurang 0,12 mg per ml.

*Larutan uji* Gunakan sejumlah alikuot yang telah disaring, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* dalam sel 5 mm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 263 nm, menggunakan *Media disolusi* sebagai blangko. Hitung persentase risedronat natrium yang terlarut dengan rumus:

$$900 \left( \frac{C_s}{L} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right) 100$$

900 adalah volume dalam ml *Media disolusi*;  $C_s$  adalah kadar *Risedronat Natrium BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $L$  adalah jumlah risedronat natrium dalam mg per tablet yang tertera pada etiket;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*; 100 adalah faktor konversi terhadap persentase.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) risedronat natrium,  $C_7H_{10}NNaO_7P_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

Untuk Tablet 5 mg sampai 35 mg.

**Fase gerak** Timbang 1,8 g *dinatrium edetat P*, larutkan dalam 1000 ml air dan atur pH hingga  $9,5 \pm 0,1$  dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Risedonat Natrium BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,1-0,15 mg per ml.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah *Risedronat Natrium BPFi* dan *Senyawa Sejenis C Risedronat BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar risedronat natrium anhidrat dan senyawa sejenis C risedronat berturut-turut lebih kurang 0,15 mg per ml dan 75 µg per ml.

**Larutan uji** Masukkan 10 tablet ke dalam labu tentukur yang sesuai, tambahkan *Fase gerak* lebih kurang 60% dari volume labu tentukur, kocok lebih kurang 10 menit, dan sonikasi tidak kurang dari 5 menit. Dinginkan larutan sampai suhu ruang dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Kadar larutan lebih kurang 0,5 g sampai 1,5 g per ml. Encerkan larutan ini dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg sampai 0,15 mg per ml, dari jumlah yang tertera pada etiket. Saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,22 µm, buang 3 ml filtrat pertama.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 263 nm dan kolom 25 cm x 4,0 mm yang berisi bahan pengisi *L48* dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 0,8 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara senyawa sejenis C risedronat dan risedronat tidak kurang dari 2,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase risedronat natrium,  $C_7H_{10}NNaO_7P_2$ , dalam tablet dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Risedronat Natrium BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar risedronat natrium dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

Untuk Tablet 75 mg atau lebih.

**Fase gerak** Timbang 1,8 g *dinatrium edetat P*, larutkan dalam 1000 ml air dan atur pH hingga  $9,5 \pm 0,1$  dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Risedonat Natrium BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Risedronat BPFi* larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar risedronat natrium anhidrat dan senyawa sejenis A risedronat berturut-turut lebih kurang 0,25 mg dan 0,004 mg per ml.

**Larutan uji** Masukkan 10 tablet ke dalam yang sesuai, tambahkan lebih kurang 400 ml *Fase gerak*, tutup dan kocok secara mekanik selama 5-15 menit menggunakan pengocok orbital atau yang sesuai. [Catatan Jika perlu sonikasi 5-15 menit.] Encerkan beningan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,2-0,3 mg per ml. Saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45 µm, buang beberapa ml filtrat pertama.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 263 nm dan kolom 25 cm x 4,0 mm yang berisi bahan pengisi *L48* dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak risedronat dan senyawa sejenis A risedronat tidak kurang dari 2,0; faktor ikutan untuk risedronat tidak lebih dari 1,5; simpangan baku relatif untuk puncak risedronat pada tiga kali penyuntikan tidak lebih dari 1,5%.

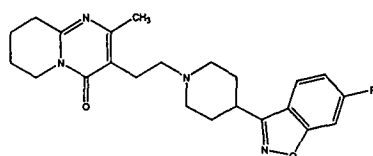
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase risedronat natrium,  $C_7H_{10}NNaO_7P_2$ , dalam tablet dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Risedronat Natrium BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar risedronat natrium dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, dalam suhu ruang terkendali.

**RISPERIDON**  
**Risperidone**



3-[2-[4-(6-fluoro-1,2-benzisoksazol-3-il)piperidino] etil]-6,7,8,9-tetrahidro-2-metil-4H-pirido[1,2-α] pirimidin-4-on [106266-06-2]  
C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub> BM 410,48

Risperidon mengandung C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub> tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk; putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Larut dalam metilen klorida; agak larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam air.

**Baku pembanding** Risperidon BPFi; Campuran Kesesuaian Sistem Risperidon BPFi [Catatan Campuran ini terdiri dari risperidon, Z-oksime, 9-hidroksirisperidon dan 6-metilrisperidon.]

**Identifikasi**

A. Serapan spektrum inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Risperidon BPFi.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 80° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 2 g zat.

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 10 bpj.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada Tabel. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Dapar, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Pengencer, Larutan kesesuaian sistem, Larutan baku, Larutan uji dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Prosedur Suntikkan secara terpisah (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram. Identifikasi semua cemaran berdasarkan waktu retensi relatif seperti tertera pada Tabel, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase senyawa sejenis risperidon dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right) \left( \frac{1}{F} \right)$$

C<sub>u</sub> dan C<sub>s</sub> berturut-turut adalah kadar risperidon dalam mg per ml Larutan uji dan Larutan baku; r<sub>u</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; r<sub>s</sub> adalah respons puncak risperidon dari Larutan baku; F adalah faktor respons relatif masing-masing cemaran terhadap risperidon. Abaikan puncak cemaran yang kurang dari 0,05%.

Tabel

Senyawa sejenis	Waktu retensi relatif	Faktor Respons Relatif	Batas (%)
E-oksime <sup>1</sup>	0,60	1,0	≤ 0,20
Z-oksime <sup>2</sup>	0,67	0,63	≤ 0,20
9-hidroksirisperidon <sup>3</sup>	0,76	0,92	≤ 0,20
5-fluororisperidon <sup>4</sup>	0,94	1,0	≤ 0,20
Risperidon	1,0	1,0	-
6-metilrisperidon <sup>5</sup>	1,2	0,95	≤ 0,20
Cemaran lain	-	1,0	0,10
Total cemaran	-	-	0,30

<sup>1</sup>3-[2-[4-[(E)-(2,4-difluorofenil)(hidroksiimino)metil] piperidin-1-il]etil]-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4H-pirido[1,2-α]pirimidin-4-on  
<sup>2</sup>3-[2-[4-[(Z)-(2,4-difluorofenil)(hidroksiimino)metil] piperidin-1-il]etil]-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4H-pirido[1,2-α]pirimidin-4-on  
<sup>3</sup>(9RS)-3-[2-[4-(6-fluoro-1,2-benzisoksazol-3-il)piperidin-1-il]etil]-9-hidroksi-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4H-pirido[1,2-α]pirimidin-4-on  
<sup>4</sup>3-[2-[4-(5-fluoro-1,2-benzisoksazol-3-il)piperidin-1-il]etil]-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4H-pirido[1,2-α]pirimidin-4-on  
<sup>5</sup>(6RS)-3-[2-[4-(6-fluoro-1,2-benzisoksazol-3-il)piperidin-1-il]etil]-2,6-dimetil-6,7,8,9-tetrahidro-4H-pirido[1,2-α]pirimidin-4-on

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Dapar Larutkan 15,4 g amonium asetat P dalam 1000 ml air. Atur pH hingga 6,5 dengan penambahan asam asetat 10 %.

Pengencer Buat campuran 100 ml Dapar, 900 ml air dan 1000 ml metanol P.

Larutan A Buat campuran 100 ml Dapar dan 150 ml metanol P ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Saring dan awadarakan.

Larutan B Buat campuran 100 ml Dapar dan 850 ml metanol P ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Saring dan awadarakan.

Fase gerak Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada Sistem kromatografi. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan kesesuaian sistem Buat larutan Campuran Kesesuaian Sistem Risperidon BPFi dengan kadar 1 mg per ml dalam Pengencer.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Risperidon BPF1*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah zat larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 275 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada 35°. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-1	70	30	isokratik
1-20	70 → 5	30 → 95	gradien linier
20-25	5	95	isokratik
25-27	5 → 70	95 → 30	gradien linier
27-35	70	30	Kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: identifikasi puncak yang sesuai dengan *Z*-oksim, 9-hidroksirisperidon, 6-metilrisperidon dan risperidon, berdasarkan waktu retensi relatif seperti tertera pada *Tabel*; resolusi, *R*, antara *Z*-oksim dan 9-hidroksirisperidon tidak kurang dari 2,8; faktor ikutan untuk puncak risperidon tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif untuk puncak risperidon pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak risperidon. Hitung persentase risperidon,  $C_{23}H_{27}FN_4O_2$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

$C_s$  dan  $C_u$  berturut-turut adalah kadar risperidon dalam mg per ml *Larutan baku* dan *Larutan uji*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak risperidon dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, pada suhu ruang.

### TABLET RISPERIDON Risperidone Tablet

Tablet Risperidon mengandung risperidon,  $C_{23}H_{27}FN_4O_2$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Risperidon BPF1*.

### Identifikasi

A. Serbukkan sejumlah tablet untuk membuat larutan zat dengan kadar  $550 \pm 50$  µg per ml dalam *etil asetat P*. Kocok larutan selama 30 menit dan sentrifus selama 20 menit. Uapkan 5 ml beningan di atas tangas air hangat dengan bantuan aliran gas *nitrogen P* hingga tersisa 2 ml. Tambahkan  $150 \pm 50$  mg serbuk *kalium bromida P*, aduk rata dan keringkan. Spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Risperidon BPF1*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 500 ml *asam klorida 0,1 N*.

*Alat tipe 2*: 50 rpm

*Waktu*: 45 menit

Lakukan penetapan jumlah  $C_{23}H_{27}FN_4O_2$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril *P* (65:35) dan tambahkan 1 ml *asam trifluoroasetat P* ke dalam tiap 1000 ml campuran. Atur pH hingga 3,0 dengan penambahan *amonium hidroksida P*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Risperidon BPF1* dan larutkan dalam *Media disolusi*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Media disolusi*, hingga kadar lebih kurang 6 µg per ml.

**Larutan uji** Gunakan sejumlah alikuot yang telah disaring melalui penyaring dengan porositas 35 µm.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 237 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi risperidon lebih kurang 2,1 menit dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase risperidon,  $C_{23}H_{27}FN_4O_2$ , yang terlarut dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C_s}{L} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right) 100$$

500 adalah volume dalam ml *Media disolusi*;  $C_s$  adalah kadar zat dalam mg per ml *Larutan baku*; *L* adalah jumlah dalam mg risperidon per tablet yang tertera pada etiket;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari

Larutan uji dan Larutan baku; 100 adalah faktor konversi persentase.

Toleransi Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) risperidon, C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, dari jumlah yang tertera pada etiket.

Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Disolusi.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Risperidon BPF<sub>I</sub>, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai dan larutkan dalam asam klorida 0,1 N, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan asam klorida 0,1 N, hingga kadar lebih kurang 0,03 mg per ml.

Larutan uji Masukkan satu tablet ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 50 ml asam klorida 0,1 N kocok secara mekanik selama 30 menit. Encerkan dengan asam klorida 0,1 N sampai tanda. Saring larutan melalui penyaring dengan porositas 0,2 µm atau lebih kecil. Gunakan filtrat.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak risperidon. Hitung jumlah dalam mg risperidon, C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, dalam tablet dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Risperidon BPF<sub>I</sub> dalam mg per ml Larutan baku; r<sub>u</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respons puncak risperidon dari Larutan uji dan Larutan baku.

Senyawa sejenis Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari yang tertera pada Tabel. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak, Pengencer, Larutan baku dan Larutan uji Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan Natrium hidroksida encer Tambahkan natrium hidroksida 0,1 N tetes demi tetes ke dalam 1000 ml air hingga pH lebih kurang 8,5.

Hidrogen peroksida encer Encerkan 1 ml hidrogen peroksida P dengan air hingga 500 ml.

Larutan identifikasi puncak Timbang lebih kurang 10 mg Risperidon BPF<sub>I</sub>, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, suspensikan dengan 10 ml Natrium hidroksida encer. Simpan labu pada suhu 90° selama 24 jam, dinginkan sampai suhu ruang. Tambahkan 10 ml Hidrogen peroksida encer, simpan lagi labu pada suhu 90° selama 2 jam. Dinginkan labu sampai suhu ruang dan encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Larutan uji Gunakan Larutan uji pada Penetapan kadar.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar. Suntikkan lebih kurang 20 µl Larutan

identifikasi puncak, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: identifikasi puncak dengan waktu retensi relatif seperti tertera pada Tabel; resolusi, R, antara puncak trans-N-oksida dan cis-N-oksida tidak kurang dari 1,2. [Catatan Perkiraan waktu retensi relatif pada Tabel ini hanya untuk keperluan identifikasi.]

Prosedur Suntikkan lebih kurang 20 µl Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam serbuk tablet dengan rumus:

$$100 \left( \frac{1}{R} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

R adalah faktor respons relatif seperti tertera pada Tabel; r<sub>i</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; r<sub>s</sub> adalah respons puncak risperidon dari Larutan uji.

Tabel

Senyawa sejenis	Waktu retensi relatif	Faktor Respons Relatif	Batas (%)
Bisiklorisperidon <sup>1</sup>	0,68	0,81	≤ 0,5
Risperidon	1,0	1,0	-
Risperidon trans-N-oksida <sup>2</sup>	1,65	-	Tidak dihitung, hanya untuk identifikasi dan kesesuaian sistem
Risperidon cis-N-oksida <sup>3</sup>	1,81	0,95	≤ 0,5
Masing-masing cemaran lain yang tidak spesifik	-	1,0	0,3
Total cemaran	-	-	≤ 1,0

<sup>1</sup>3-(4-fluoro-2-hidroksifenil)-1-[2-(6,7,8,9-tetrahydro-2-metil-4-okso-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-3-il)etil]-2-aza-1-azoniabisiklo[2,2,2]okt-2-en iodida

<sup>2</sup>trans-3-[2-[4-[(6-fluoro-1,2-benzisoksazol-3-il)1-piperidinil]etil]-6,7,8,9-tetrahydro-2-metil-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-on, N-oksida monohidrat

<sup>3</sup>cis-3-[2-[4-[(6-fluoro-1,2-benzisoksazol-3-il)1-piperidinil]etil]-6,7,8,9-tetrahydro-2-metil-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-on, N-oksida monohidrat

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Pengencer Buat campuran air-metanol P (80:20), saring dan awaudarakan.

Larutan A Buat campuran air-asetonitril P-asam trifluoroasetat P (80:19,5:0,1). Atur pH hingga 3,0, dengan penambahan amonium hidroksida P, saring dan awaudarakan.

Larutan B Buat campuran air-metanol P-asam trifluoroasetat P (61:39:0,1). Atur pH hingga 3,0, dengan penambahan amonium hidroksida P, saring dan awaudarakan.

Fase gerak Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada Sistem kromatografi. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Risperidon BPF<sub>I</sub> masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai,

larutkan dalam *Pengencer*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Pengencer*, hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Serbukkan tidak kurang dari 10 tablet, timbang saksama sejumlah serbuk tablet, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, hingga diperoleh kadar akhir 0,1 mg per ml. Tambahkan air 20% dari volume labu, kocok secara mekanik selama 30 menit. Tambahkan *metanol P* 60% dari volume labu, kocok secara mekanik selama 30 menit. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Saring larutan melalui penyaring yang sesuai dengan porositas 0,45 µm atau lebih kecil. Gunakan filtrat.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 275 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2,5 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada suhu ruang. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0 - 8	100	0	isokratik
8 - 16	100 → 0	0 → 100	gradien linier
16 - 20	0	100	isokratik
20 - 21	0 → 100	100 → 0	gradien linier
21 - 30	100	0	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan untuk puncak risperidon tidak lebih dari 2,5; dan simpangan baku relatif untuk puncak risperidon pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak risperidon. Hitung jumlah dalam mg risperidon, C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

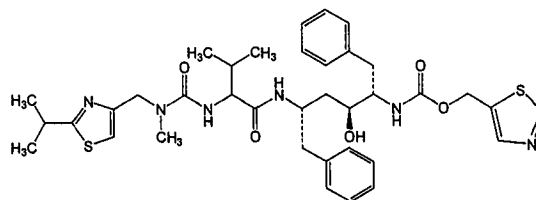
$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C<sub>u</sub>* dan *C<sub>s</sub>* berturut-turut adalah kadar risperidon dalam mg per ml *Larutan uji* dan *Larutan baku*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak risperidon dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya, pada suhu ruang terkendali.

## RITONAVIR

### Ritonavir



5-Tiazolilmetil[(*αS*)-*α*-[(1*S*,3*S*)-1-hidroksi-3-[(2*S*)-2-[3-[(2-isopropil-4-tiazolil)metil]-3-metilureido-3-metilbutiramido]-4-fenilbutil]fenetil]karbamat [155213-67-5]

C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub> S<sub>2</sub>

BM 720,94

Ritonavir mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0%, C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Kelarutan** Mudah larut dalam metanol dan dalam metilen klorida; sangat sukar larut dalam asetonitril; praktis tidak larut dalam air.

**Baku pembanding Ritonavir BPF1, Campuran Senyawa Sejenis Ritonavir BPF1.**

### Identifikasi

A. Larutkan 50 mg zat dalam 1 ml *kloroform P*. Teteskan 1 tetes larutan pada permukaan cakram *kaliun bromida P* atau *natrium klorida P* dan uapkan hingga kering. Spektrum serapan inframerah residu, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Ritonavir BPF1*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* dalam rentang 2% dari waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Difraksi sinar X** <811> Pola difraksi sinar X sesuai dengan *Ritonavir BPF1*, jika bahan obat digunakan untuk sediaan obat bentuk padat.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat dan 2 ml *Larutan baku timbal* (10 bpj).

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan menggunakan 0,5 g zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,2%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode I* Memenuhi syarat.

**Senyawa sejenis** [Catatan *Ritonavir* bersifat sensitif terhadap alkali. Semua peralatan gelas sebelum digunakan harus dibilas terlebih dahulu dengan air untuk menghilangkan kontaminasi sisa deterjen.] Cemaran E dan cemaran O tidak lebih dari 0,3%; cemaran T tidak

lebih dari 0,2%; cemaran lain tidak lebih dari 0,1% dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan kalium fosfat monobasa 0,03 M, Pengencer, Larutan A, Larutan B dan Fase gerak, Larutan baku persediaan, Larutan baku antara* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku identitas ritonavir* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Campuran Senyawa Sejenis Ritonavir BPF1* dan masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 5 ml *Larutan baku antara* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. [*Catatan Larutan dapat digunakan selama 48 jam jika disimpan pada suhu ruang.*]

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 240 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi *L26* dengan ukuran partikel 3 µm. Pertahankan suhu kolom pada 60°. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram seperti di bawah ini:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0	100	0	Kesetimbangan
0-60	100	0	Isokratik
60-120	100 → 0	0 → 100	Gradien
120,1	0 → 100	100 → 0	Gradien
120,1-155	100	0	Isokratik

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* selama 40 menit dan *Larutan uji* selama 155 menit. Lakukan

kromatografi terhadap *Larutan baku identitas ritonavir* dan *Larutan baku*. Ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi ritonavir antara 30 dan 35 menit; resolusi, *R*, antara cemaran E dan cemaran F (lihat *Tabel*) dalam *Larutan baku identitas ritonavir* tidak kurang dari 1,0; perbandingan puncak (*H<sub>p</sub>*) terhadap lembah (*H<sub>v</sub>*) dan cemaran N tidak kurang dari 1; faktor kapasitas, *k'*, puncak utama pada penyuntikan pertama *Larutan baku* tidak kurang dari 13; efisiensi kolom puncak utama pada penyuntikan pertama *Larutan baku* tidak kurang dari 5000 lempeng teoritis. Faktor ikutan puncak utama pada penyuntikan pertama *Larutan baku* antara 0,8 dan 1,2; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Pengencer, Larutan baku identitas ritonavir, Larutan baku dan Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak.

Hitung persentase masing-masing cemaran dengan rumus:

$$0,0025 \left( \frac{W_s}{W_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right) \left( \frac{1}{F} \right) P$$

*W<sub>s</sub>* adalah bobot *Ritonavir BPF1* dalam mg *Larutan baku*; *W<sub>U</sub>* adalah bobot zat yang digunakan untuk *Larutan uji* dalam mg; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji*; *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak ritonavir rata-rata yang diperoleh dari 6 kali penyuntikan *Larutan baku*. *F* adalah faktor respons untuk cemaran (seperti tertera pada *Tabel*) dan *P* adalah kemurnian *Ritonavir BPF1* dalam persen.

Tabel. Perkiraan Waktu Retensi Relatif (WRR) yang diketahui pada Cemaran sejenis

Identitas cemaran	Nama senyawa	Faktor respons	WRR
A+B	Campuran 2,4 "Wing acid" dan monoasil valin	-	0,07
C	Monoasilasetamid	-	0,15
D	5-"Wing" diasil	1,37	0,24
E	Cemaran oksidasi	-	0,36
F	Produk hidrolisa asam	0,73	0,39
G	Ritonavir hidroperoksida	-	0,45
H	Produk dari asam/basa	0,76	0,47
I	Analog etil	-	0,64
J + K	Campuran Boc-monoasil dan monoasil isobutil karbamat	0,74	0,81
L	Produk Siklisasi basa	0,53	0,87
M	Ester 2,4 "Wing" isobutil	-	0,94
N	Isomerregio	-	1,05
O	Isomer # 2	-	1,11
P	Di-monoasil urea # 2	-	1,14
Q	Isomer # 4	-	1,23
R	Isomer # 1	-	1,32
S	Di-monoasil valin urea	-	1,62
T	2,4-"Wing" diasil	0,73	2,87
U	Cemaran Triasil	-	3,20

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan kalium fosfat monobasa 0,03 M* Larutkan lebih kurang 8,2 g kalium fosfat monobasa P dalam 2000 ml air. Saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45 µm.

*Pengencer* Buat campuran *Larutan kalium fosfat monobasa 0,03 M-asetonitril P (1:1)*, saring melalui penyaring nilon dengan porositas 0,45 µm.

*Larutan A* Buat campuran *Larutan kalium fosfat monobasa 0,03 M-asetonitril P-tetrahidrofuran P* (tanpa penghambat)-*n-butanol P (69:18:8:5)*.

*Larutan B* Buat campuran *asetonitril P-Larutan kalium fosfat monobasa 0,03 M-tetrahidrofuran P* (tanpa penghambat)-*n-butanol P (47:40:8:5)*

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Karena waktu retensi dan selektivitas sangat tergantung pada komposisi fase gerak, maka pengukuran volume harus dilakukan dengan teliti. Aliran gas helium P yang berlebihan atau terus menerus harus dihindari. Simpan fase gerak dalam wadah tertutup rapat jika tidak digunakan.]

*Larutan baku* persediaan Timbang saksama lebih kurang 100 mg *Ritonavir BPFi* dan masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. [Catatan *Larutan ini dapat disimpan dalam lemari pendingin selama 5 hari.*]

*Larutan baku* antara Pipet 5 ml *Larutan baku* persediaan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 25 ml *Larutan baku* antara ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan uji* Pipet 5 ml *Larutan uji* yang dibuat seperti tertera pada uji *Senyawa sejenis* ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Pipet 25 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan *Larutan uji* selama 40 menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas, *k*, puncak utama pada penyuntikan pertama *Larutan baku* tidak kurang dari 13; efisiensi kolom puncak utama pada penyuntikan pertama *Larutan baku* tidak kurang dari 5000 lempeng teoritis. Faktor ikutan puncak utama pada penyuntikan pertama *Larutan baku* antara 0,8 dan 1,2; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang dari *Larutan baku* tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

respons puncak utama. Hitung persentase ritonavir, C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, dengan rumus:

$$0,5 \left( \frac{W_s}{W_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) P$$

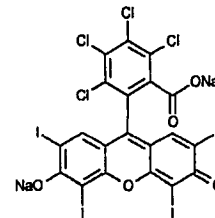
*W<sub>s</sub>* adalah bobot *Ritonavir BPFi* dalam mg yang digunakan untuk membuat *Larutan baku*; *W<sub>U</sub>* adalah bobot zat dalam mg yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak ritonavir dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*; *P* adalah kemurnian *Ritonavir BPFi* dalam persen. Hitung persentase ritonavir anhidrat, C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> dengan rumus:

$$\frac{100 A}{(100 - B)}$$

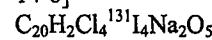
*A* adalah persentase ritonavir, C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> yang dihitung seperti tersebut di atas dan *B* adalah kadar air dalam persen.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, pada suhu antara 5° dan 30°.

### INJEKSI ROS BENGAL NATRIUM <sup>131</sup>I Rose Bengal Sodium <sup>131</sup>I Injection



Garam dinatrium 4,5,6,7-tetrakloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresein <sup>131</sup>I [24916-55-0; 50291-21-9; 15251-14-6]



Injeksi Ros Bengal Natrium <sup>131</sup>I adalah larutan steril, mengandung Ros Bengal Natrium, yang sebagian molekul mengandung iodium radioaktif <sup>131</sup>I dalam struktur molekulnya. Dapat mengandung dapar yang sesuai. Injeksi Ros Bengal Natrium <sup>131</sup>I mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah <sup>131</sup>I sebagai Ros Bengal Natrium yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq (µCi atau mCi) per ml pada saat kalibrasi dilakukan. Kandungan Ros Bengal Natrium tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari yang tertera pada etiket. Radioaktivitas dalam bentuk kimia lain tidak lebih dari 10% dari radioaktivitas total.

**Pemerian** Larutan jernih, berwarna merah tua.



**Baku pembanding Endotoksin BPF1;** [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Endotoksin bakteri <201>** Untuk injeksi intravena: memenuhi syarat uji *Endotoksin bakteri*, mengandung tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah jumlah dosis total maksimum yang dianjurkan, dalam ml pada waktu atau tanggal kedaluwarsa.

**pH <1071>** Antara 7,0 dan 8,5.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada *Radioaktivitas <1171>*. Spektrum sinar gamma menunjukkan puncak energi utama 0,364 MeV yang sama seperti <sup>131</sup>I yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Kemurnian radiokimia** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan 25 mm dari bawah sejumlah volume larutan yang mengandung kalium iodida P 0,1%, kalium iodat P 0,2% dan natrium bikarbonat P 1,0%, pada kertas kromatografi berukuran 300 mm x 25 mm dan biarkan kering. Totolkan pada titik yang sama, sejumlah volume sama dari larutan injeksi yang telah diencerkan sedemikian hingga memberikan laju cacahan lebih kurang 20.000 cacahan per menit dan biarkan kering. Masukkan kertas dalam bejana kromatografi menaik dengan fase gerak asam asetat 1 N selama 2 jam. Keringkan kertas kromatografi di udara dan tetapkan distribusi radioaktivitas dengan menatah kromatogram menggunakan detektor radiasi terkolimasi: radioaktivitas pada pita ros bengal tidak kurang dari 90,0% dari radioaktivitas total. Pita ros bengal terdapat pada titik penotolan.

**pH <1071>** Antara 7,0 dan 8,5.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah dosis total maksimum yang dianjurkan dalam ml pada saat kadaluarsa.

**Syarat lain Memenuhi syarat Injeksi**, kecuali bahwa injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas harus dilakukan pada akhir hari produksi dan tidak harus memenuhi anjuran seperti tertera pada *Penetapan Volume Injeksi dalam Wadah <1131>*.

**Penetapan kadar ros bengal natrium** Ukur serapan injeksi yang diencerkan secukupnya, dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum 550 nm menggunakan larutan *natrium bikarbonat P* yang diatur hingga pH 8 sebagai blanko. Hitung jumlah dalam mg ros bengal natrium, dalam tiap ml injeksi, dengan rumus:

$$0,004 D \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

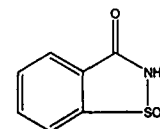
D adalah faktor pengenceran;  $A_u$  dan  $A_s$  berturut-turut adalah serapan injeksi dan serapan larutan ros bengal natrium (4 µg per ml) yang diatur hingga pH 8 menggunakan larutan natrium bikarbonat.

**Penetapan radio aktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq (µCi) per ml Injeksi Ros Bengal Natrium <sup>131</sup>I menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda.

**Penandaan** Kecuali pernyataan seperti tertera pada *Penandaan dalam Injeksi*, pada etiket juga tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) Jumlah <sup>131</sup>I sebagai Ros Bengal Natrium dalam MBq total (µCi atau mCi) dan dalam MBq (µCi atau mCi) per ml pada tanggal kalibrasi; (3) Tanggal kedaluwarsa; (4) Peringatan "Awat Bahan Radioaktif", (5) Informasi bahwa dalam perhitungan dosis lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif; (6) Waktu paruh <sup>131</sup>I adalah 8,08 hari.

## SAKARIN Saccharin



1,2 -Benzisotiazolin-3-on-1,1-dioksida [81-07-2]  
 $C_7H_5NO_3S$  BM 183,18

Sakarín mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_7H_5NO_3S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk atau hablur; putih, tidak berbau atau berbau aromatik lemah. Larutan encer sangat manis. Larutan bereaksi asam terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sukar larut dalam etanol; agak sukar larut dalam air, dalam kloroform dan dalam eter; larut dalam air mendidih; mudah larut dalam larutan ammonia encer, dalam larutan alkali hidroksida dan dalam alkali karbonat dengan pembentukan karbondioksida.

**Baku pembanding o-Toluensulfonamida BPF1;** tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat, *p-Toluensulfonamida BPF1*, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Larutkan lebih kurang 100 mg dalam 5 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 20), uapkan larutan hingga kering dan lelehkan hati-hati di atas nyala api kecil hingga tidak berbau amonia. Biarkan sisa hingga dingin, larutkan dalam 20 ml air, netralkan larutan ini dengan *asam klorida 3 N* dan saring, tambahkan setetes *besi(III) klorida LP* ke dalam filtrat: terjadi warna ungu.

B. Campur 20 mg dengan 40 mg *resorsinol P*, tambahkan 10 tetes *asam sulfat P*, dan panaskan campuran dalam tangas cair yang sesuai pada suhu 200° selama 10 menit. Diamkan, hingga dingin tambahkan 10 ml air dan *natrium hidroksida 1 N* berlebihan: cairan berfluoresensi hijau.

Jarak lebur <1021> Antara 226° dan 230°.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,2%.

**Toluensulfonamida** Tidak lebih dari 0,0025%.

*Larutan baku internal* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *n-trikosana P*, masukkan dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *n-heptan P* sampai tanda.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama masing-masing lebih kurang 20 mg *o-Toluensulfonamida BPF1* dan *p-Toluensulfonamida BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *metilen klorida P* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet berturut-turut 100 µl, 150 µl, 200 µl, 250 µl *Larutan baku persediaan* masing-masing ke dalam labu tentukur 10-ml. Tambahkan masing-masing 250 µl *Larutan baku internal* yang diukur saksama, encerkan dengan *metilen klorida P* sampai tanda. Tiap ml masing-masing larutan ini mengandung 25 µg *n-trikosana P* dan 20 µg, 30 µg, 40 µg dan 50 µg isomer toluen-sulfonamida.

*Larutan uji* Lakukan *Kromatografi kolom partisi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>, menggunakan tabung kromatografi yang dilengkapi dengan cakram kaca berpori pada bagian dasar, kran plastik pada ujung kolom, dan penampung pada bagian atas. Tambahkan campuran 12 g *Penyangga padat* dan larutan 2,0 g sakarin, yang ditimbang saksama, dalam 12 ml larutan *natrium bikarbonat P* (1 dalam 11) yang telah disaring. Tambahkan lebih kurang 200 mg natrium bikarbonat untuk mempermudah kelarutan sakarin. Mampatkan isi tabung dengan mengetukkan kolom pada permukaan yang empuk, dan kemudian dipadatkan dari atas. Masukkan 100 ml *metilen klorida P* dalam penampung dan atur katup pengaliran sehingga diperoleh 50 ml eluat dalam waktu 20 menit sampai 30 menit. Tambahkan 25 µl *Larutan baku internal* pada eluat, campur, dan pekatkan eluat dengan alat yang sesuai hingga volume 1,0 ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom

kaca 3,2 mm x 1,8 m berisi bahan pengisi 10% fase cair G3 pada penyangga *SIAB* yang berukuran 100-120 mesh, menggunakan sistem penyuntikkan contoh ke dalam tabung kaca atau penyuntikkan langsung dalam kolom. Pertahankan suhu injektor, kolom dan detektor berturut-turut pada lebih kurang 225°, 210° dan 250°. Gunakan *helium P* kering sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 30 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 2,5 µl) *Larutan baku*, ke dalam kromatograf gas dan rekam masing-masing kromatogram hingga diperoleh kromatogram tidak kurang dari 50% dari respons maksimum rekorder. Ukur luas puncak utama (*o*-toluensulfonamida), kedua (*p*-toluensulfonamida), dan ketiga (*n*-trikosana), dan untuk tiap kromatogram rekam harga tersebut sebagai  $A_O$ ,  $A_P$  dan  $A_N$ . Hitung perbandingan  $R_O$  dan  $R_P$  dengan rumus:

$$R_O = \left( \frac{A_O}{A_N} \right) \text{ dan } R_P = \left( \frac{A_P}{A_N} \right)$$

Buat kurva baku antara kadar *o-Toluensulfonamida BPF1* dan *p-Toluensulfonamida BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku* terhadap  $R_O$  dan  $R_P$  [Catatan Waktu retensi relatif lebih kurang 0,39 untuk *o-Toluensulfonamida*, 0,46 untuk *p-Toluensulfonamida* dan 1,0 untuk *n-trikosana*.] Dengan cara yang sama suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 2,5 µl) *Larutan uji* dan rekam kromatogram. Ukur luas puncak yang pertama (*o*-toluensulfonamida), kedua (*p*-toluensulfonamida), ketiga (*n*-trikosana) sebagai  $a_O$ ,  $a_P$  dan  $a_N$ . Hitung perbandingan  $r_O$  dan  $r_P$  dengan rumus:

$$r_O = \left( \frac{a_O}{a_N} \right) \text{ dan } r_P = \left( \frac{a_P}{a_N} \right)$$

dan dari kurva baku tetapkan kadar masing-masing isomer toluensulfonamida dalam *Larutan uji* dalam µg per ml. Jumlah toluensulfonamida dalam contoh yang diuji tidak lebih dari 0,0025%.

**Arsen** <321> *Metode II* Tidak lebih dari 3 bpj.

**Selenium** <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 100 mg zat uji yang dicampur dengan 100 mg magnesium oksida.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 10 bpj.

**Zat mudah terarangkan** <411> Larutkan 200 mg dalam 5 ml *asam sulfat LP* dan pertahankan pada suhu 45° - 50° selama 10 menit. Larutan tidak lebih berwarna dari *Larutan padanan A*.

**Asam benzoat dan salisilat** Ke dalam 10 ml larutan jenuh panas tambahkan tetes demi tetes larutan *besi(III) klorida LP*: tidak terbentuk endapan atau warna ungu.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
*Metode V* Memenuhi syarat.

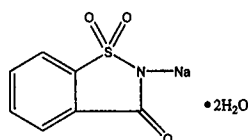
*Pelarut* Gunakan *dimetil sulfoksida P*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 40 ml *etanol P*, tambahkan 40 ml air, campur. Tambahkan *fenolftalein LP*, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*. Lakukan titrasi blangko.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,1 N*  
setara dengan 18,32 mg  $C_7H_5NO_3S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### SAKARIN NATRIUM Saccharin Sodium



*Natrium 1,2-benzisotiazolin-3-on 1,1-dioksida dihidrat*  
[6155-57-3]

$C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$  BM 241,19  
Anhidrat [128-44-9] BM 205,16

Sakarin Natrium mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% mg  $C_7H_4NNaO_3S$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur, putih, tidak berbau atau agak aromatik; rasa sangat manis walau dalam larutan encer. Larutan encernya lebih kurang 300 kali semanis sukrosa. Bentuk serbuk biasanya mengandung sepertiga jumlah teoritis air hidrat akibat perekahan.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *o-Toluensulfonamida BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat, *p-Toluensulfonamida BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

#### Identifikasi

A. Lakukan pemijaran: sisa menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

B. Pada 10 ml larutan (1 dalam 10) tambahkan 1 ml *asam klorida P*: terbentuk endapan hablur dari sakarin. Cuci endapan dengan air dingin hingga air cucian bebas klorida, keringkan pada suhu 105° selama 2 jam. Suhu lebur antara 226° dan 230°, lakukan penetapan menggunakan prosedur *Metode I* seperti tertera pada *Penetapan Jarak lebur* atau *Suhu lebur <1021>*.

C. Larutkan lebih kurang 100 mg dalam 5 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) uapkan hingga

kering, lebur residu hati-hati di atas api lemah sampai tidak lagi membebaskan amoniak. Biarkan residu dingin, larutkan dalam 20 ml air, netralkan dengan *asam klorida 3 N*, saring. Tambahkan pada filtrat satu tetes *besi(III) klorida LP*: terjadi warna violet.

D. Campur 20 mg dengan 40 mg *resorsinol P*, tambahkan 10 tetes *asam sulfat P*, panaskan campuran dalam tangas cair yang sesuai pada suhu 200° selama 3 menit. Biarkan dingin, tambahkan 10 ml air dan *natrium hidroksida 1 N* berlebih: terjadi cairan dengan fluoresensi hijau.

**Kebasaan Larutan** (1 dalam 10) bereaksi netral atau alkali terhadap *lakmus P*, tetapi dengan *fenolftalein LP* tidak terjadi warna merah.

**Toluensulfonamida** Tidak lebih dari 0,0025%.

*Larutan baku internal, Larutan baku persediaan, dan Larutan baku* Buat seperti pada unit *Toluensulfonamida* dalam sakarin.

*Larutan uji* Lakukan *Kromatografi kolom partisi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*, menggunakan tabung kromatografi yang dilengkapi cakram kaca berpori pada bagian dasar, kran plastik pada ujung kolom dan pencadang pada bagian atas. Tambahkan campuran 10 g *Penyangga padat* dan larutan 2,0 g sakarin natrium, yang ditimbang saksama, dalam 8,0 ml larutan *natrium karbonat P* (1 dalam 20). Lanjutkan seperti tertera pada *Larutan uji* pada uji *Toluensulfonamida* dalam Sakarin mulai dengan "Mampatkan isi tabung ....".

*Sistem kromatografi dan Prosedur* Lakukan seperti pada uji *Toluensulfonamida* dalam *Sakarin*.

**Logam berat <371> Metode I** Tidak lebih dari 10 bpj; buat larutan uji sebagai berikut: Larutkan 4 g dalam 46 ml air dan 4 *asam klorida 1 N* campur, gosok dinding dalam wadah dengan pengaduk kaca sampai terjadi penghabluran. Biarkan larutan selama 1 jam, saring melalui penyaring kering, buang 10 ml filtrat pertama, gunakan 25 ml filtrat berikutnya sebagai *Larutan uji*.

**Arsen <321> Metode II** Tidak lebih dari 3 bpj.

**Selenium <391>** Tidak lebih dari 30 bpj.

**Zat mudah terarangkan < 411>** Larutkan 200 mg dalam 5 ml *asam sulfat LP*, pertahankan suhu pada 48° sampai 50° selama 10 menit: larutan tidak lebih berwarna dari *Larutan padanan A*.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 15,0%.

**Benzoat dan salisilat** Pada 10 ml larutan (1 dalam 20), asamkan dengan 5 tetes *asam asetat 6 N*, tambahkan 3 tetes *besi(III) klorida LP*; tidak terjadi endapan atau warna ungu.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, pindahkan saksama ke dalam corong pisah dengan bantuan 10 ml air. Tambahkan 2 ml *asam klorida 3 N*, ekstraksi endapan sakarin, pertama dengan 30 ml kemudian 5 kali, tiap kali dengan 20 ml campuran pelarut *kloroform P-etanol P (9:1)*. Uapkan kumpulan ekstrak di atas tangas uap dengan bantuan aliran udara hingga kering. Larutkan residu dengan 40 ml *etanol P*, tambahkan 40 ml air, campur, tambahkan *fenolftalein LP*, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko menggunakan campuran 40 ml *etanol P* dan 40 ml air.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,1 N*  
setara dengan 20,52 mg  $C_7H_4NNaO_3S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SAKAROSA

### Saccharose

Sukrosa [57-50-1]  
 $C_{12}H_{22}O_{11}$

BM 342,30

Sakarosa adalah gula yang diperoleh dari *Saccharum officinarum* Linne (Familia *Gramineae*), *Beta vulgaris* Linne (Familia *Chenopodiaceae*) dan sumber-sumber lain. Tidak mengandung bahan tambahan.

**Pemerian** Hablur putih atau tidak berwarna; massa hablur atau berbentuk kubus, atau serbuk hablur putih; tidak berbau; rasa manis, stabil di udara. Larutannya netral terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; lebih mudah larut dalam air mendidih; sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Rotasi jenis** <1081> Tidak kurang dari +65,9°; lakukan penetapan menggunakan larutan 2,6 g dalam 10 ml, zat sebelumnya dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,05 %; lakukan penetapan menggunakan 5,0 g.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 35 bpj; lakukan penetapan menggunakan 2,0 g dan tidak lebih keruh dari 0,10 ml *asam klorida 0,020 N* yang diperlakukan sama.

**Sulfat** <361> Tidak lebih dari 60 bpj; lakukan penetapan menggunakan 5,0 g dan tidak lebih keruh dari 0,30 ml *asam sulfat 0,020 N* yang diperlakukan sama.

**Kalsium** Pada 10 ml larutan (1 dalam 10) tambahkan 1 ml *amonium oksalat LP*; larutan tetap jernih selama minimum 1 menit.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 5 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 4,0 g dalam 15 ml air,

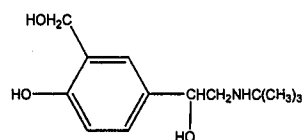
tambahkan 1 ml *asam klorida 0,12 N* dan encerkan dengan air hingga 25 ml.

**Gula invert** Lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 20 g zat dalam air hingga 100 ml dan saring bila perlu. Masukkan 50 ml cairan jernih tersebut ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 50 ml *tembaga(II) tartrat alkali LP*, tutup gelas piala dengan kaca arloji dan panaskan campuran dengan kecepatan tertentu sehingga mulai mendidih setelah lebih kurang 4 menit dan didihkan tepat selama 2 menit. Tambahkan segera 100 ml air yang baru dididihkan dan didinginkan, dan kumpulkan segera endapan tembaga(I) oksida ke dalam penyaring kaca pasir yang sudah ditara dengan ukuran pori sedang atau yang sesuai. Cuci sisa pada penyaring dengan air panas, kemudian dengan 10 ml *etanol P* dan terakhir dengan 10 ml *eter P* dan keringkan pada suhu 105° selama 1 jam; bobot tembaga(I) oksida tidak lebih dari 112 mg.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapi.

## SALBUTAMOL

Salbutamol  
Albuterol



$\alpha'$ -[(*tert*-Butilamino)metil]-4 hidroksi-*m*-xilena- $\alpha,\alpha'$ -diol [18559-94-9]  
 $C_{13}H_{21}NO_3$

BM 239,31

Salbutamol mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{13}H_{21}NO_3$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; larut dalam etanol; melebur pada suhu lebih kurang 156°.

**Baku pembeding** *Salbutamol BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Salbutamol BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan dalam *asam klorida 0,1 N* (1 dalam 12.500) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti *Salbutamol BPF1*.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

#### Kemurnian kromatografi

*Fase gerak metil isobutil keton P-isopropil alkohol P-etil asetat P-air-amonium hidroksida P (50:45:35:18:3).*

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Salbutamol BPF*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 0,10 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 20 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap dan paparkan uap iodum: setiap bercak selain bercak utama *Larutan uji*, ukuran dan intensitasnya tidak lebih besar dari ukuran dan intensitas *Larutan baku* (0,5%) dan jumlah cemar tidak lebih dari 2,0%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* menggunakan indikator 2 tetes *kristal violet LP*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N  
setara dengan 23,93 mg C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

#### TABLET SALBUTAMOL

##### Salbutamol Tablet

Tablet Salbutamol mengandung Salbutamol Sulfat, (C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, setara dengan Salbutamol, C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Salbutamol Sulfat BPF**; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Harga R<sub>f</sub> bercak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku A* yang diperoleh pada penetapan *Senyawa sejenis*.

B. Kocok sejumlah serbuk tablet setara lebih kurang 4 mg salbutamol dengan 10 ml air dan saring: filtrat menunjukkan reaksi *Sulfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Disolusi <1231> Prosedur untuk gabungan sampel**

*Media disolusi:* 500 ml air

*Alat tipe 2:* 50 rpm

*Waktu:* 30 menit

Lakukan penetapan jumlah C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume lebih kurang 100 µl alikuot yang telah disaring melalui penyaring nilon 0,45 µm ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>, yang terlarut dengan membandingkan respons puncak alikuot dan *Larutan baku*. Jika perlu lakukan pengenceran terhadap *Larutan baku* menggunakan campuran air-*metanol P* (6:4) hingga kadar yang sesuai dengan kadar alikuot.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) salbutamol, C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *metilisobutilketon P-isopropil alkohol P-etil asetat P-air-amonium hidroksida P (50:45:35:18:3)*.

*Larutan uji* Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 48 mg salbutamol, masukkan ke dalam wadah yang sesuai. Tambahkan 60 ml *etanol encer P* (1 dalam 2) dan kocok secara mekanik selama 30 menit. Saring campuran, cuci penyaring dengan sedikit *etanol P*, gabungkan *etanol* pencuci dengan filtrat. Uapkan filtrat hingga kering di bawah tekanan rendah pada suhu di bawah 40°. Larutkan residu sesempurna mungkin dalam 2 ml air.

*Larutan baku* Buat larutan *Salbutamol Sulfat BPF* dalam air dengan kadar lebih kurang 0,580 mg per ml (*Larutan baku 1*); 0,218 mg per ml (*Larutan baku 2*) dan 0,073 mg per ml (*Larutan baku 3*) setara dengan berturut-turut lebih kurang 0,483 mg; 0,183 mg dan 0,061 mg salbutamol.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah 10 µl, *Larutan uji, Larutan baku 1, 2 dan 3* pada lempeng kromatografi yang dilapisi *silika gel* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat lebih kurang 17 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan keringkan di udara. Semprot dengan *3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorida LP*, kemudian semprot dengan *amonium kalium besi(III) sianida LP* dan terakhir disemprot kembali dengan *3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorida LP*. Amati adanya bercak sekunder pada garis rambat *Larutan uji*, bandingkan dengan bercak pada *Larutan baku 1, 2 dan 3*. Bercak sekunder *Larutan uji* yang paling besar tidak lebih intensif dan lebih besar daripada bercak utama *Larutan baku 1* (2,0%). Bercak sekunder lain *Larutan uji* tidak lebih intensif dan lebih besar dari bercak utama *Larutan baku 2* (0,75%). Tidak lebih dari dua bercak

sekunder dari *Larutan uji* yang sama ukuran atau intensitasnya dengan bercak utama *Larutan baku 3* (0,25%). Jumlah intensitas dari semua bercak sekunder *Larutan uji* tidak lebih dari 3,5%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Asam asetat 1%* Encerkan 20 ml *asam asetat glasial P* dengan air hingga 2000 ml.

*Fase gerak* Larutkan 1,13 g *natrium 1-heksansulfonat P* dalam 1200 ml air, tambahkan 12 ml *asam asetat glasial P* dan campur. Buat campuran larutan ini dengan *metanol P* (6:4), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 12 mg *Salbutamol Sulfat BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 60 ml *Asam asetat 1%*, sonikasi selama 5 menit, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 25 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan campuran air-*metanol P* (6:4) sampai tanda.

*Larutan uji* Masukkan sejumlah tablet setara lebih kurang 50 mg salbutamol ke dalam labu tentukur 2000-ml. Tambahkan 1200 ml *Asam asetat 1%*, kocok secara mekanik selama 45 menit, sonikasi selama 10 menit, dinginkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Saring larutan melalui penyaring membran dengan porositas 0,45  $\mu\text{m}$  atau lebih kecil.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 276 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 800 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 2,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg salbutamol,  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ , dalam sejumlah tablet yang digunakan dengan rumus:

$$2000 C \left( 2 \right) \left( \frac{239,31}{576,70} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

239,31 dan 576,70 berturut-turut adalah bobot molekul salbutamol dan salbutamol sulfat; 2000 adalah volume dalam ml *Larutan uji*; *C* adalah kadar *Salbutamol Sulfat BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*; 2 adalah jumlah molekul salbutamol yang dilepas dari setiap molekul salbutamol sulfat.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan dalam suhu ruang terkendali.

## SALBUTAMOL SULFAT

### Albuterol Sulfat

Garam  $\alpha'$ -[(*tert*-butilamino)metil]-4-hidroksi-*m*-xilena- $\alpha,\alpha'$ -diol sulfat (2:1) [51022-70-9]  
 $(\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_3)_2\text{H}_2\text{SO}_4$  BM 576,70

Salbutamol Sulfat mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%  $(\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_3)_2\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk; putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol, dalam kloroform, dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Salbutamol Sulfat BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa Sejenis A* *Salbutamol BPF1* 4-[2-[(1,1-Dimetiletil) amino]-1-hidroksietil]-2-metilfenol sulfat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Salbutamol Sulfat BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 80  $\mu\text{g}$  per ml dalam *asam klorida 0,1 N*, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Salbutamol Sulfat BPF1*.

C. Kocok sejumlah zat setara dengan 4 mg salbutamol dengan 10 ml air dan saring, filtrat menunjukkan reaksi *Sulfat* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <281>*.

D. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,5 % dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran metil isobutil keton *P*-isopropil alkohol *P*-etil asetat *P*-air-amonium hidroksida *P* (50:45:35:18:3).

*Penampak bercak* Uap Iodium *P*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Salbutamol Sulfat BPF1*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 0,10 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* tebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah berisi dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan kering dan paparkan lempeng dalam uap iodum: ukuran dan intensitas bercak selain bercak utama dari *Larutan uji*, tidak lebih besar dan tidak lebih intensif dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan amonium asetat* 0,05±0,01 M Larutkan 3,85 g amonium asetat P dalam 1000 ml air, campur.

*Fase gerak* Buat campuran air-amonium asetat 0,05±0,01 M dan *isopropanol P* [(65:30:(5±1))] atur pH hingga 4,5±0,3 dengan penambahan *asam asetat P* tetes demi tetes.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Salbutamol Sulfat BPFi* dan *Senyawa sejenis A Salbutamol BPFi* larutkan dalam air, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut 0,140 mg per ml dan 0,030 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Salbutamol Sulfat BPFi* larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar lebih kurang 0,6 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 60 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV 276 nm dan kolom 20 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L10*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara *salbutamol* dan *senyawa sejenis A salbutamol* tidak kurang dari 1,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

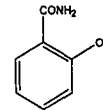
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg *salbutamol sulfat*, (C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Salbutamol Sulfat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## SALISILAMIDA Salicylamide



2-Hidroksi benzamida [65-45-2]

C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>

BM 137,14

Salisilamida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air dan dalam kloroform, larut dalam etanol dan dalam propilen glikol; mudah larut dalam eter dan dalam larutan basa.

**Baku pembanding** *Salisilamida BPFi*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 18 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Salisilamida BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 62.500) dalam *metanol P*, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Salisilamida BPFi*; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 302 nm berbeda tidak lebih dari 3%.

C. Larutkan lebih kurang 100 mg dalam 5 ml *etanol P*, tambahkan beberapa tetes *besi(III) klorida LP*: terjadi warna lembayung.

**Jarak lebur** <1021> Antara 139° dan 142°.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 10 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* *n-butylasetat P*-*kloroform P*-*asam format P* (6:4:2)

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 200 mg, larutkan dalam 10,0 ml *metanol P*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Salisilamida BPFI*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 1,0 mg per ml.

**Enceran larutan baku** Buat satu seri pengenceran larutan baku dalam *metanol P* hingga kadar 0,20 mg; 0,15 mg; 0,10 mg dan 0,05 mg per ml.

**Prosedur** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl, *Larutan uji*, *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku* pada jarak yang sama, pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm dan keringkan bercak dengan udara mengalir. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* hingga merambat tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat fase gerak, biarkan *Fase gerak* menguap, amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm dan tandai bercak. Bercak lain kecuali bercak utama *Larutan uji* tidak boleh lebih intensif dari bercak utama *Enceran larutan baku* dan intensitas total semua bercak lain *Larutan uji* tidak lebih besar dari 1% dibanding bercak utama *Enceran larutan baku* kadar 0,15 mg per ml.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>** Metode V Memenuhi syarat.

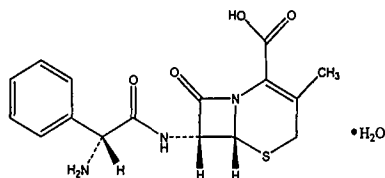
*Pelarut* Gunakan *dimetil sulfoksida P*

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 100 ml yang dilengkapi pengaduk mekanik dan penutup yang sesuai dengan sebuah lubang untuk ujung buret. Tambahkan 30 ml *dimetilformamida P* yang baru dinetralkan, mengandung beberapa tetes *biru timol LP*. Titrasi dengan *natrium metoksida 0,1 N LV* dalam *toluen P* sampai warna biru. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *natrium metoksida 0,1 N* setara dengan 13,71 mg  $C_7H_7O_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SEFADROKSIL Cefadroxil



*Asam (6R, 7R)-7 [(R)-2-amino-2-(p-hidroksi fenil)asetamido]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo [4.2.0]ok-2-en-2-karboksilat mono-hidrat [66592-87-8]*

$C_{16}H_{17}N_3O_5S \cdot H_2O$

Hemihidrat [119922-85-9]

Anhidrat [50370-12-2]

BM 381,40

BM 372,39

BM 363,40

*Sefadroksil* mempunyai potensi setara tidak kurang dari 950 µg dan tidak lebih dari 1050 µg  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$  per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; praktis tidak larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Sefadroksil BPFI*; merupakan bentuk monohidrat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan di tempat dingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti *Sefadroksil BPFI*.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Masukkan lempeng kromatografi yang dilapisi dengan 0,25 mm lapisan silika gel bebas pengikat ke dalam bejana kromatografi yang mengandung campuran *n-heksan P-tetradekana P* (95:5) hingga ke dalaman lebih kurang 1 cm, biarkan pelarut merambat setinggi lempeng. Angkat lempeng dan biarkan pelarut menguap. Pada lempeng ini totolkan masing-masing 20 µl larutan dalam air yang mengandung (1) zat uji 2 mg per ml dan (2) *Sefadroksil BPFI* 2 mg per ml, biarkan mengering. Masukkan lempeng ke dalam bejana yang berisi fase gerak campuran asam sitrat 0,1 M–*natrium* fosfat dibasa 0,1 M–*ninhidrin P* dalam *aseton P* 1 dalam 15 (60:40:1,5) dan biarkan merambat tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambatan, dan biarkan kering di udara. Semprot lempeng dengan *ninhidrin P* dalam *etanol dehidrat* 1 dalam 500 [Catatan Hindarkan larutan penampak bercak dari cahaya.] Keringkan pada suhu 110° selama 10 menit, amati kromatogram; harga *R<sub>f</sub>* bercak utama yang diperoleh dari larutan (1) sesuai dengan bercak utama larutan (2).

**Rotasi jenis <1081>** Antara +165,0° dan +178,0°; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam air 10 mg per ml.

**Sifat hablur <1091>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 6,0; lakukan penetapan dalam suspensi yang mengandung 50 mg per ml.

**Air <1031>** Metode I Antara 4,2% dan 6,0%, kecuali pada etiket dinyatakan dalam bentuk hemihidrat antara 2,4% dan 4,5%.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pelarut* Buat campuran *etanol P*-air-asam klorida 2,4 N (75:22:3).



*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat uji, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 25 mg per ml.

*Larutan baku 1* Encerkan 1,0 ml *Larutan uji* dengan *Pelarut* hingga 100 ml, campur.

*Larutan baku 2* Timbang saksama sejumlah asam 7-amino desasetoksi sefalosporanat dan D- $\alpha$ -4-hidroksi fenilglisin, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar masing-masing 0,25 mg per ml.

*Larutan baku 3* Timbang saksama D- $\alpha$ -4-hidroksifenilglisin, larutkan dengan *Pelarut* hingga kadar 0,25 mg per ml.

*Larutan resolusi* Campur 1,0 ml *Larutan uji* dan 1,0 ml *Larutan baku 2*.

*Fase gerak* Campuran etil asetat *P- etanol P-air-asam format P* (14:5:5:1)

*Penampak bercak* Buat larutan 3 g *ninhidrin P* dalam 100 ml larutan *natrium metabisulfid 4,55%*.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 2  $\mu$ l *Larutan uji*, *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2*, *Larutan baku 3* dan 4  $\mu$ l *Larutan resolusi* pada lempeng kromatografi yang dilapisi dengan campuran silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan lempeng kering. Semprot lempeng dengan larutan *Penampak bercak*. Biarkan lempeng kering dan amati kromatogram di bawah lampu UV gelombang pendek: adanya bercak sekunder yang diperoleh dari kromatogram *Larutan uji* asam 7-amino desasetoksisefalosporanat atau D- $\alpha$ -4-hidroksifenilglisin, intensitasnya tidak lebih dari bercak yang diperoleh dari *Larutan baku 2* (1,0%); adanya bercak lain selain dari bercak utama dan adanya bercak menunjukkan asam 7-amino desasetoksi sefalosporanat atau D- $\alpha$ -4-hidroksifenilglisin, intensitasnya tidak lebih dari pada bercak utama dari kromatogram yang diperoleh dari *Larutan baku 1* (1,0%). Dalam uji valid kromatogram yang diperoleh dari *Larutan Resolusi* menunjukkan tiga bercak yang terpisah jelas.

**Dimetilanilin** < 362> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 5,0*. Larutkan 13,6 g kalium fosfat monobasa dalam air hingga 2000 ml. Atur pH hingga 5,0 dengan penambahan *kalium hidroksida 10 N* dan campur.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar pH 5,0-asetonitril P* (960:40) dan saring melalui penyaring dengan porositas 0,5  $\mu$ m atau lebih halus jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. [Catatan Penambahan kadar *asetonitril P* pada *Fase gerak* menurunkan waktu retensi *sefadroksil* dan pengurangan kadar *asetonitril P* pada *Fase gerak* meningkatkan waktu retensi *sefadroksil*.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefadroksil BPFi*, larutkan dalam *Dapar pH 5,0* hingga kadar lebih kurang 1,06 mg per ml. Larutan ini mengandung setara dengan *sefadroksil* lebih kurang 1000  $\mu$ g per ml. Gunakan larutan ini pada hari pembuatan.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 212 mg zat, masukkan dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Dapar pH 5,0* sampai tanda, kocok secara mekanik selama 5 menit hingga larut. Gunakan larutan ini pada hari pembuatan.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 230 nm dan kolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas, *k'* antara 2,0 dan 3,5; efisiensi kolom ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 1800 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam  $\mu$ g *sefadroksil*,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , dalam tiap mg, zat yang digunakan, dengan rumus:

$$200 \left( \frac{CE}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefadroksil BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *E* adalah kesetaraan *sefadroksil* dalam  $\mu$ g per mg *Sefadroksil BPFi*; *W* adalah bobot *sefadroksil* yang digunakan dalam mg; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *sefadroksil* dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## KAPSUL SEFADROKSIL Cefadroxil Capsule

Kapsul *Sefadroksil* mengandung *sefadroksil*,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefadroksil BPFi*; merupakan bentuk monohidrat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin.

**Identifikasi** Campur isi dari satu kapsul dengan air hingga kadar *sefadroksil* lebih kurang 2 mg per ml dan saring; filtrat menunjukkan reaksi *Identifikasi cara B* seperti tertera pada *Sefadroksil*.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi* : 900 ml air.

*Alat tipe 1* : 100 rpm.

*Waktu* : 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan air, dan serapan larutan baku *Sefadroksil BPFi* yang diketahui kadarnya dalam media yang sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 263 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) sefadroksil,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031>** *Metode 1* Tidak lebih dari 7,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 5,0, Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefadroksil*.

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 10 kapsul, ke luaran isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 200 mg sefadroksil, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dan encerkan dengan *Dapar pH 5,0* sampai tanda dan kocok secara mekanik selama 5 menit. Gunakan larutan pada hari pembuatan.

*Prosedur* Lakukan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefadroksil*. Hitung jumlah dalam mg sefadroksil,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , dalam serbuk kapsul yang digunakan, dengan rumus:

$$0,2CE \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefadroksil BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *E* adalah kesetaraan sefadroksil dalam  $\mu\text{g}$  per mg *Sefadroksil BPFi*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sefadroksil dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**Penandaan** Bila kapsul menggunakan bentuk hemihidrat, harus dicantumkan pada etiket.

**TABLET SEFADROKSIL**  
**Cefadroxil Tablet**

Tablet Sefadroksil mengandung sefadroksil,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefadroksil BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Merupakan bentuk monohidrat. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin.

**Identifikasi** Larutkan sejumlah serbuk tablet yang setara dengan lebih kurang 250 mg sefadroksil, dengan air hingga kadar sefadroksil lebih kurang 2 mg per ml, saring. Filtrat menunjukkan reaksi *Identifikasi cara B* dalam *Sefadroksil*.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi* : 900 ml air.

*Alat tipe 2* : 50 rpm.

*Waktu* : 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan larutan baku *Sefadroksil BPFi* pada media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 263 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) sefadroksil,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031>** *Metode 1* Tidak lebih dari 8,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 5,0, Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefadroksil*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 10 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 200 mg sefadroksil, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan dapar pH 5,0* sampai tanda dan aduk secara mekanik selama 5 menit. Gunakan larutan ini pada hari pembuatannya.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefadroksil*. Hitung jumlah dalam mg,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus :

$$0,2CE \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefadroksil BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *E* adalah kesetaraan sefadroksil dalam  $\mu\text{g}$

per mg *Sefadroksil BPFi*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sefadroksil dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SEFADROKSIL UNTUK SUSPENSI ORAL Cefadroxil Capsule for Suspension Oral

Sefadroksil untuk Suspensi Oral adalah campuran kering sefadroksil dengan satu atau lebih dapar, pewarna, pengencer dan perisa yang sesuai. Mengandung sefadroksil,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefadroksil BPFi*; merupakan bentuk monohidrat. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin.

**Identifikasi** Konstitusikan satu wadah *Sefadroksil untuk Suspensi Oral* seperti tertera pada etiket. Campur sejumlah suspensi dengan air hingga kadar sefadroksil lebih kurang 2 mg per ml dan saring; filtrat menunjukkan reaksi *Identifikasi cara B* seperti tertera pada *Sefadroksil*.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.  
*Untuk kemasan padat dalam wadah dosis tunggal.*

**Volume berpindah** <1261> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 4,5 dan 6,0 dalam suspensi yang dikonstitusikan sesuai etiket.

**Air** <1031> *Metode 1* Tidak lebih dari 2,0%, kecuali etiket menyatakan mengandung sefadroksil 100 mg per ml setelah konstitusi, batas tidak lebih dari 3,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 5,0, Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefadroksil*.

*Larutan uji* Konstitusikan isi wadah *Sefadroksil untuk Suspensi Oral* seperti tertera pada etiket. Ukur saksama sejumlah volume suspensi oral setara dengan lebih kurang 250 mg sefadroksil, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *Dapar pH 5,0* sampai tanda dan kocok secara mekanik selama 5 menit. Saring lebih kurang 25 ml larutan ini melalui penyaring dengan porositas 0,8  $\mu m$  atau lebih halus, dan gunakan filtrat jernih sebagai *Larutan uji*. Gunakan larutan pada hari pembuatan.

*Prosedur* Lakukan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefadroksil*. Hitung jumlah

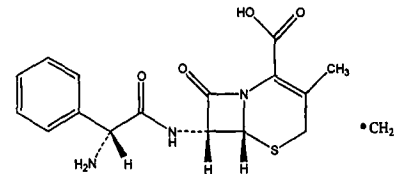
dalam mg sefadroksil,  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ , per ml suspensi oral yang digunakan dengan rumus :

$$0,25 \left( \frac{CE}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Sefadroksil BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $E$  adalah kesetaraan sefadroksil dalam  $\mu g$  per mg *Sefadroksil BPFi*;  $V$  adalah volume Sefadroksil untuk Suspensi Oral yang digunakan dalam ml;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sefadroksil dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SEFAKLOR Cefaclor



*Asam 3-kloro-7D-(2-fenilglisinamido)-3-sephem-4 asam karboksilat monohidrat.* [70356-03-5]

$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S \cdot H_2O$

BM 385,82

Anhidrat [53994-73-3]

BM 367,81

Sefaklor mempunyai potensi tidak kurang dari 950  $\mu g$  dan tidak lebih dari 1020  $\mu g$   $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$  per mg, dihitung sebagai zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga hampir putih.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; praktis tidak larut dalam metanol, dalam kloroform dan dalam benzen.

**Baku pembanding** *Sefaklor BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Untuk penetapan kuantitatif lakukan penetapan kadar air dalam persentase (W) secara titrimetri pada saat akan digunakan. Jika dalam perhitungan rumus memerlukan faktor koreksi gunakan  $P = 1000-10 W$ . Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan dalam lemari pendingin. *Isomer 3-Delta Sefaklor BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan dalam lemari pembeku.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida  $P$  menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sefaklor BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Sifat hablur <1091>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 3,0 dan 4,5; lakukan penetapan menggunakan suspensi dalam air dengan kadar 25 mg per ml.

**Air <1031> Metode I** Antara 3,0% dan 6,5%.

**Senyawa sejenis** Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Pelarut** Larutkan 2,4 g *natrium fosfat monobasa P* dalam 1000 mL air, atur pH hingga 2,5 dengan penambahan *asam fosfat P*.

**Larutan blangko** Gunakan pelarut.

**Larutan A** Larutkan 6,9 g *natrium fosfat monobasa P* dalam 1000 mL air, atur pH hingga 4,0 dengan penambahan *asam fosfat P*.

**Larutan B** Siapkan campuran *Larutan A* dan *asetonitril P* (550:450), awaudarkan tidak lebih dari 2 menit.

**Fase gerak** Gunakan campuran *Larutan A* dan *B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Kurangi jumlah *asetonitril* untuk meningkatkan waktu retensi *sefaklor* dan meningkatkan resolusi antara isomer 3-delta dan *sefaklor*.]

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Sefaklor BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga diperoleh larutan dengan kadar 0,05 mg per ml. Jika perlu sonikasi untuk melarutkan dan hindari pemanasan. [Catatan Gunakan larutan pada hari pembuatan.]

**Larutan kesesuaian sistem** Larutkan sejumlah *Sefaklor BPFi*, *Isomer Delta-3 Sefaklor BPFi* dalam *Larutan baku* hingga diperoleh larutan dengan kadar 0,05 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan masing-masing ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan pelarut sampai tanda. Jika perlu sonikasi untuk melarutkan dan hindari pemanasan. [Catatan Gunakan *Larutan uji* dalam waktu 2 jam jika disimpan pada suhu ruang atau 20 jam jika disimpan dalam lemari pendingin.]

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>* Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi yang diatur sebagai berikut :

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0	95	5	kesetimbangan
0-30	95→75	5→25	gradien linier
30-45	75→0	25→100	gradien linier
45-55	0	100	isokratik
55-60	0→95	100→5	komposisi semula
60-70	95	5	kesetimbangan ulang

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromagram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi puncak *sefaklor* antara 23 dan 29 menit; resolusi, *R*, antara *sefaklor*, dan isomer 3-delta *sefaklor* tidak kurang dari 2,0; dan faktor ikutan dari puncak *sefaklor* tidak lebih dari 1,2. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan blangko* seperti tertera pada *Prosedur* Tetapkan puncak lain selain puncak utama dalam kromatogram *Larutan baku* dan abaikan semua puncak yang sesuai pada kromatogram *Larutan uji*. [Catatan Pastikan tiap puncak lain selain puncak utama yang diamati bukan merupakan bawaan dari penyuntikkan sebelumnya.]

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing senyawa sejenis *sefaklor* dengan rumus :

$$\left(\frac{CP}{W}\right)\left(\frac{r_i}{r_s}\right)$$

*C* adalah kadar *Sefaklor BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Sefaklor BPFi* dalam µg per mg; *W* adalah berat *sefaklor*, dalam mg, yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing senyawa sejenis dalam *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak *Sefaklor* dalam *Larutan baku*. Tetapkan nilai rata-rata dari masing-masing senyawa sejenis *sefaklor*. Masing-masing senyawa sejenis *sefaklor* tidak lebih dari 0,5% dan total senyawa sejenis *sefaklor* tidak lebih dari 2,0%. Penetapan dapat diterima jika perbedaan absolut antara 2 penetapan ulang total senyawa sejenis *sefaklor* tidak lebih dari 0,2%, atau perbedaan rata-rata kedua hasil penetapan tidak lebih dari 10%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Larutkan 1 g *Natrium 1-pentanasulfonat P* dalam campuran 780 ml air dan 10 ml *trietilamin P*. Atur pH hingga 2,5±0,1 dengan penambahan *asam fosfat P*, tambahkan 220 ml *metanol P*, campur. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 15 mg *Sefaklor BPFi* masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Jika perlu lakukan sonikasi untuk mendapatkan larutan yang sempurna, hindari pemanasan. [Catatan Gunakan larutan baku ini dalam waktu 8 jam jika disimpan pada suhu ruang, atau 20 jam jika disimpan dalam lemari pendingin.]

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 15 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan fase gerak sampai tanda. Jika perlu sonikasi hingga larut sempurna, hindari pemanasan. [Catatan

Gunakan larutan uji ini dalam waktu 8 jam jika disimpan pada suhu ruang, atau 20 jam jika disimpan dalam lemari pendingin.]

**Larutan resolusi** Buat larutan dalam Fase gerak yang mengandung lebih kurang 0,3 mg sefaklor dan 0,3 mg Isomer 3-Delta Sefaklor BPFi per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm. Berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif sefaklor dan 3-delta sefaklor isomer 0,8 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak sefaklor dan isomer 3-delta tidak kurang dari 2,5; faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif penyuntikan berulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung potensi, dalam µg per mg, sefaklor, (C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S) tiap mg zat dengan rumus :

$$\left(\frac{W_s}{W_u}\right)\left(\frac{r_u}{r_s}\right)P$$

Ws dan Wu adalah bobot dalam mg, Sefaklor BPFi dan sefaklor yang digunakan untuk pembuatan Larutan baku dan Larutan uji; P adalah potensi Sefaklor BPFi dalam µg per mg dan ; ru dan rs berturut-turut adalah respons puncak sefaklor dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### KAPSUL SEFAKLOR Cefaclor Capsule

Kapsul Sefaklor mengandung setara tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S seperti tertera pada etiket.

**Baku Pembanding Sefaklor BPFi** tidak boleh dikeringkan. Untuk penetapan kuantitatif lakukan penetapan kadar air dalam persentase (W) secara titrimetri pada saat akan digunakan. Jika dalam perhitungan rumus memerlukan faktor koreksi gunakan P=1000-0 W. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan dalam lemari pendingin. Isomer 3-Delta Sefaklor BPFi; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan dalam lemari pembeku.

**Identifikasi Campur** dan encerkan isi dari 1 kapsul dengan air hingga diperoleh kadar lebih kurang 0,3 mg

sefaklor per ml, dan saring, filtrat menunjukkan reaksi Identifikasi cara B seperti tertera pada Sefaklor.

#### Disolusi <1231>

Media disolusi: 900 ml air.

Alat tipe 2: 50 rpm.

Waktu: 30 menit.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan air, dan serapan larutan baku Sefaklor BPFi dalam medium yang sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 264 nm.

**Toleransi** Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) sefaklor, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031> Metode I** tidak lebih dari 8,0%.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pelarut, Larutan blangko, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Senyawa sejenis dalam Sefaklor.

**Larutan uji** Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luaran isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah serbuk kapsul setara dengan lebih kurang 50 mg sefaklor, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml. Larutkan dalam Pelarut hingga larut sempurna jika perlu sonikasi. Hindari pemanasan. Encerkan dengan Pelarut sampai tanda dan saring. Gunakan Larutan uji dalam waktu 3 jam jika disimpan dalam suhu ruang dan 20 jam jika disimpan dalam lemari pendingin.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak. Hitung dalam mg masing-masing senyawa sejenis dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$0,01CP\left(\frac{r_i}{r_s}\right)$$

C adalah kadar Sefaklor BPFi dalam mg per ml Larutan baku; P adalah potensi Sefaklor BPFi dalam µg per mg; ri adalah respons puncak suatu masing-masing senyawa sejenis dalam Larutan uji dan rs adalah respons puncak sefaklor dalam Larutan baku. Masing-masing senyawa sejenis sefaklor tidak lebih dari 0,5%, dan total senyawa sejenis sefaklor tidak lebih dari 2,0% tidak termasuk puncak tambahan yang memberikan hasil kurang dari 0,1%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaktor*.

*Larutan uji* Timbang saksama isi tidak kurang dari 20 kapsul, dan timbang seksama serbuk kapsul setara dengan lebih kurang 75 mg sefaktor masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Jika perlu lakukan sonikasi untuk melarutkan. Saring untuk mendapatkan *Larutan uji* yang jernih.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Sefaktor*. Hitung jumlah dalam mg sefaktor,  $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ , dalam serbuk kapsul yang di gunakan dengan rumus:

$$5W_s \left( \frac{P}{1000} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$W_s$  adalah bobot dalam mg, *Sefaktor BPF1* yang digunakan untuk pembuatan *Larutan baku*,  $P$  adalah potensi *Sefaktor BPF1* dalam  $\mu g$  per mg;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak sefaktor dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SEFAKLOR UNTUK SUSPENSII ORAL Cefaclor for Oral Suspension

Sefaktor untuk Suspensi Oral merupakan campuran kering dari Sefaktor dengan satu atau lebih dapar yang sesuai, pewarna, bahan tambahan, larutan pengencer dan perisa. Mengandung Sefaktor,  $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefaktor BPF1*, tidak boleh dikeringkan. Untuk penetapan kuantitatif lakukan penetapan kadar air dalam persentase (W) secara titrimetri pada saat akan digunakan.

Jika dalam perhitungan rumus memerlukan faktor koreksi gunakan  $P=1000-10W$ . Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan dalam lemari pendingin. *Isomer 3-Delta Sefaktor BPF1*, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan dalam lemari pembeku.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat. Untuk kemasan padat dalam wadah dosis tunggal.

**Volume terpindahkan <1261>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 2,5 dan 5,0; menggunakan suspensi yang dikonstitusi seperti tertera pada etiket.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 2,0%.

**Senyawa sejenis** Masing-masing senyawa sejenis sefaktor tidak lebih dari 1,0% dan jumlah semua senyawa sejenis sefaktor tidak lebih dari 3,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pelarut, Larutan blangko, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis dalam Sefaktor*.

*Larutan uji* Konstitusikan sefaktor untuk suspensi oral seperti tertera pada etiket. Pindahkan dengan saksama sejumlah suspensi oral yang sudah dikocok dan bebas dari gelembung udara yang setara dengan 50 mg sefaktor ke dalam labu tentukur 10-ml. Larutkan dalam *Pelarut*, jika perlu lakukan sonikasi sampai larut. Hindari pemanasan. Encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda, dan saring. Gunakan *Larutan uji* dalam waktu 3 jam bila disimpan pada suhu ruang, atau dalam waktu 20 jam bila disimpan pada lemari pendingin.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu l$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak.

Hitung jumlah dalam mg masing-masing senyawa sejenis dalam sefaktor, untuk suspensi oral yang digunakan dengan rumus:

$$0,01CP \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Sefaktor BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $P$  adalah potensi dalam  $\mu g$  per mg *Sefaktor BPF1*;  $r_i$  adalah respons puncak senyawa sejenis yang ditentukan dalam *Larutan uji*; dan  $r_s$  adalah respons puncak sefaktor dalam *Larutan baku*. Abaikan puncak yang kurang dari 0,1%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaktor*.

*Larutan uji* Konstitusikan sefaktor untuk suspensi oral seperti tertera pada etiket. Pipet sejumlah suspensi yang baru dikonstitusi segar dan bebas dari gelembung udara, encerkan secara kuantitatif dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,3 mg per ml. Jika perlu sonikasi agar sefaktor larut dan saring.

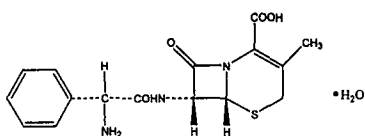
*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaktor*. Hitung jumlah dalam mg sefaktor,  $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ , dalam sefaktor untuk suspensi oral yang digunakan dengan rumus:

$$V_U \left( \frac{W_S}{50} \right) \left( \frac{P}{1000} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$V_U$  adalah volume akhir dalam ml *Larutan uji*, dan ketentuan lain seperti tertera pada *Sefaktor*;  $W_S$  adalah bobot dalam mg sefaktor yang digunakan dalam *Larutan uji*;  $P$  adalah potensi *Sefaktor BPF1* dalam  $\mu\text{g}$  per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sefaktor dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## SEFALEKSIN Cephalexin



*Asam(6R,7R)-7-[(R)-2-amino-2-fenilasetamido]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4,2,0]okt-2-ena-2-karboksilat monohidrat [23325-78-2]*

$C_{16}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$

BM 365,41

Anhidrat [15686-71-2]

BM 347,40

Sefaleksin mempunyai potensi tidak kurang dari 950  $\mu\text{g}$  dan tidak lebih dari 1030  $\mu\text{g}$  per mg,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; praktis tidak larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Sefaleksin BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Merupakan bentuk monohidrat Sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup rapat. Pada saat akan digunakan tetapkan kadar air secara titrimetri untuk analisis kuantitatif.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sefaleksin BPF1*;

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 50.000) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada larutan *Sefaleksin BPF1*; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 262 nm tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 104,0% dihitung terhadap *Sefaleksin BPF1*, potensi *Baku pembanding* telah diperhitungkan.

C. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu\text{l}$  larutan dalam air dengan penambahan *asam klorida 0,1 N* yang mengandung (1) zat uji kadar 25 mg per ml dan (2) *Sefaleksin BPF1* kadar 25 mg per ml pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak etil asetat P-air-asetonitril P-asam asetat glasial P (42:18:14:14)* dan dilapisi kertas saring dan biarkan *Fase gerak* merambat tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap. Amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm, harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

**Sifat hablur <1091>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 3,0 dan 5,5; lakukan penetapan menggunakan suspensi dalam air yang mengandung 50 mg per ml.

**Rotasi jenis <1081>** antara  $+149^\circ$  dan  $+158^\circ$ , dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 50 mg per 10 mg dalam dapar ftalat netral pH 4,4.

**Air <1031> Metode I** Antara 4,0% dan 8,0%.

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 1,0% masing-masing senyawa sejenis sefaleksin dan tidak lebih dari 5,0% jumlah seluruh senyawa sejenis yang ditemukan. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan A* Timbang sejumlah 1 g *natrium 1-pentanasulfonat P*, larutkan dalam campuran *air-trietanolamina P (1000:15)*, atur pH hingga  $2,5 \pm 0,1$  dengan *asam fosfat P*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan B* Timbang sejumlah 1 g *natrium 1-pentanasulfonat P*, larutkan dalam campuran *air-trietanolamina P (300:15)*, atur pH hingga  $2,5 \pm 0,1$  dengan *asam fosfat P*. Tambahkan 350 ml *asetonitril P* dan 350 ml *etanol P*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pelarut* Timbang sejumlah 18 g *kalium fosfat monobasa P*, larutkan dalam 1000 ml air.

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Sefaleksin BPF1*, larutkan dalam *pelarut* secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 0,08 dan 0,16 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 5-ml, tambahkan *Pelarut* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* keasaman rendah dan

*Fase gerak* campuran *Larutan A* dan *B* yang diprogram sebagai berikut: sistem disetimbangkan dengan menggunakan *Larutan A* 100%, suntikan secara terpisah *Larutan baku* dan *Larutan uji*, dan pertahankan sistem pada *Larutan A* 100% selama 60 detik. *Larutan B* dinaikkan secara proporsional mengikuti garis lurus mulai dari 0% hingga 100% lebih 2000 detik, dan pertahankan selama 60 detik. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama *Larutan baku*, respons puncak utama dan puncak lainnya dari *Larutan uji*. Gambarkan respons puncak yang menyatakan hubungan antara harga pembacaan masing-masing puncak *Larutan baku* terhadap kadarnya dalam mg per ml yang dihitung terhadap zat anhidrat dan buat garis lurus melalui 2 titik dan titik 0. Dari garis lurus yang didapat dan dari respons puncak *Larutan uji*, diperoleh kadar senyawa sejenis sefaleksin (*I*) dalam mg per ml yang diperoleh dari tiap puncak. Hitung persentase senyawa sejenis sefaleksin masing-masing puncak dengan rumus:

$$500 \left( \frac{I}{W} \right)$$

*W* adalah jumlah sefaleksin dalam mg yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*, dihitung sebagai zat anhidrat.

#### Dimetilalanin <362> Memenuhi syarat

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan kadar dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat sejumlah 1015 ml campuran air-asetonitril *P*-metanol *P*-trietanolamin *P* (850:100:50:15). Larutkan 1,0 g natrium 1-pentana sulfonat *P* dalam campuran ini, atur pH hingga 3,0±0,1 dengan asam fosfat *P* dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku internal* Timbang 300 mg 1-hidroksi benzotriazol, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 10 ml metanol *P*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Sefaleksin BPFi, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Masukkan 10,0 ml larutan persediaan ini ke dalam labu bersumbat kaca dan 15,0 ml *Larutan baku internal*.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat masukkan dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Campurkan 10,0 ml larutan ini dengan 15,0 ml *Larutan baku internal* dalam labu bersumbat kaca 50 ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* keasaman rendah. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*, resolusi, *R*, antara puncak baku internal dan puncak analit tidak kurang dari 5, simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif 1-hidroksibenzotriazol dan sefaleksin masing-masing adalah lebih kurang 0,35 dan 1,0. Hitung jumlah dalam µg sefaleksin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, per mg dengan rumus:

$$100 \left( \frac{CP}{M} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar Sefaleksin BPFi dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah kadar sefaleksin yang tertera pada etiket Sefaleksin BPFi dalam µg per mg; *M* adalah mg sefaleksin yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefaleksin terhadap puncak 1-hidroksibenzo triazol *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

#### KAPSUL SEFALEKSIN

##### Cephalexin Capsule

Kapsul Sefaleksin mengandung Sefaleksin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dan jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Sefaleksin BPFi; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Merupakan bentuk monohidrat Sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup rapat. Pada saat akan digunakan tetapkan kadar air secara titrimetri untuk analisis kuantitatif.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Masukkan lempeng kromatografi silika gel tanpa bahan pengikat setebal 0,25 mm ke dalam bejana kromatografi yang berisi campuran *n-heksan P-tetradekana P* (95:5) setinggi lebih kurang 1 cm, biarkan pelarut merambat sepanjang lempeng, angkat lempeng, dan biarkan pelarut menguap. Totolkan masing-masing 10 µl larutan dalam air yang mengandung (1) campur isi 1 kapsul dalam air hingga kadar setara dengan lebih kurang 3 mg sefaleksin per ml



dan saring dan (2) *Sefaleksin BPF1* 3 mg per ml pada lempeng. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak asam sitrat 0,1 M-natrium fosfat dibasa 0,1 M-ninhidrin P dalam aseton P 1 dalam 15 (60:40:1,5) dan biarkan merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, keringkan pada suhu 110° selama 10 menit: harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi* : 900 ml air.

*Alat tipe 1* : 100 rpm.

*Waktu* : 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah *sefaleksin*  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi* kemudian bandingkan dengan serapan *Larutan baku Sefaleksin BPF1* dengan kadar lebih kurang 20 µg per ml dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 262 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031>** *Metode I* Tidak lebih dari 10,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*.

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luar isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 500 mg sefaleksin, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml, dan tambahkan air sampai tanda. Jika perlu sonikasi hingga larut semua. Jika perlu saring hingga diperoleh larutan jernih. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu bersumbat kaca 50 ml, tambahkan 15,0 ml *Larutan baku internal*, campur dan saring.

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*. Hitung jumlah dalam mg sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$0,5CP \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

C adalah kadar *Sefaleksin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah kandungan sefaleksin dalam µg per mg *Sefaleksin BPF1*;  $R_u$  dan  $R_s$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefaleksin terhadap

1-hidroksibenzotriazol pada *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**TABLET SEFALEKSIN**  
**Cephalexin Tablet**

Tablet Sefaleksin mengandung Sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dan jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefaleksin BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Merupakan bentuk monohidrat sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup kedap dan di tempat dingin.

**Identifikasi** Campur sejumlah serbuk halus tablet dengan air hingga kadar 3 mg per ml dan saring (larutan uji). Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* dalam identifikasi *Kapsul Sefaleksin* mulai dengan "Masukkan lempeng kromatografi silika gel". Harga  $R_f$  bercak utama larutan uji sesuai dengan bercak utama larutan baku.

**Disolusi <1231>**

*Untuk Sefaleksin*

*Media disolusi* : 900 ml air.

*Alat tipe 1* : 100 rpm.

*Waktu* : 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* hingga kadar 20 µg per ml, dan kemudian bandingkan dengan serapan *Larutan baku Sefaleksin BPF1* dengan kadar lebih kurang sama dan dalam media yang sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 262 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) sefaleksin, dari jumlah  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  yang tertera pada etiket.

*Untuk Sefaleksin Hidroklorida*

*Media dan Prosedur* Lakukan seperti uji disolusi untuk *Sefaleksin*.

*Alat tipe 1*: 150 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) dari jumlah sefaleksin ( $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ ) yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031>** *Metode I* Tidak lebih dari 9,0% bila tablet mengandung sefaleksin, dan tidak lebih dari 8,0% bila tablet mengandung sefaleksin hidroklorida.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet, setara dengan lebih kurang 500 mg sefaleksin, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml, dan tambahkan air sampai tanda. Jika perlu sonikasi sampai sefaleksin larut semua. Jika perlu saring hingga diperoleh larutan jernih. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu bersumbat kaca 50 ml, tambahkan 15,0 ml *Larutan baku internal*, saring.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*. Hitung jumlah dalam mg sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$0,5CP \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

C adalah kadar *Sefaleksin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah kandungan sefaleksin dalam  $\mu g$  per mg *Sefaleksin BPFi*;  $R_u$  dan  $R_s$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefaleksin terhadap 1-hidroksibenzotriazol pada *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**Penandaan** Pada etiket harus mencantumkan Tablet mengandung sefaleksin atau sefaleksin hidroklorida.

## SEFALEKSIN UNTUK SUSPENSI ORAL Cephalexin for Oral Suspension

Sefaleksin untuk Suspensi Oral adalah campuran kering sefaleksin dan satu atau lebih dapar, zat warna, pengencer dan perisa yang sesuai. Mengandung sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefaleksin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Merupakan bentuk monohidrat. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan ditempat dingin.

**Identifikasi** Konstitusikan 1 wadah Sefaleksin untuk Suspensi Oral seperti tertera pada etiket. Campur sejumlah suspensi yang diperoleh dengan air hingga kadar sefaleksin lebih kurang 3 mg per ml, saring (*Larutan uji*). Lakukan seperti tertera pada *Identifikasi dalam Kapsul Sefaleksin*, mulai dengan " Masukkan

lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan": harga  $R_f$  bercak utama pada kromatogram *Larutan uji*, sama dengan *Larutan baku*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat untuk padatan yang dikemas dalam wadah dosis tunggal.

**Volume terpindahkan <1261>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 3,0 dan 6,0; dalam suspensi yang dikonstitusikan seperti tertera pada etiket.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 2,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefaleksin BPFi*, larutkan secara kuantitatif dengan air hingga diperoleh larutan sediaan dengan kadar lebih kurang 1 mg per ml. Masukkan 10,0 ml larutan sediaan ke dalam labu bersumbat kaca 50-ml, tambahkan 15,0 ml *Fase gerak*, campur.

*Larutan resolusi* Masukkan 300 mg 1-hidroksibenzotriazol ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dalam 10 ml *metanol P*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Ke dalam 15,0 ml larutan ini tambahkan 10,0 ml larutan sediaan yang digunakan untuk pembuatan *Larutan baku*.

*Larutan uji* Konstitusi sejumlah volume seperti yang tertera pada etiket, dicampur segar dan bebas gelembung udara, dalam *Pengencer* hingga diperoleh larutan yang mengandung 250 mg sefaleksin, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan air sampai tanda. jika perlu Sonikasi, untuk memastikan kesempurnaan larutan. jika perlu saring untuk memperoleh larutan jernih. Masukkan 10,0 ml larutan ini ke dalam labu bersumbat kaca 50-ml, tambahkan 15,0 ml *Fase gerak*, campur dan saring.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Sistem kromatografi* pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*, kecuali lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi* untuk mengkonfirmasi bahwa resolusi,  $R$ , antara puncak 1-hidroksibenzotriazol dan puncak sefaleksin tidak kurang dari 5. waktu retensi relatif untuk 1-hidroksibenzotriazol dan sefaleksin berturut-turut lebih kurang 0,35 dan 1,0.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*. Hitung jumlah dalam mg sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ , dalam tiap ml suspensi terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$0,25 \left( \frac{CP}{V} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar *Sefaleksin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah kandungan sefaleksin dalam  $\mu g$

per mg *Sefaleksin BPFi*; *V* adalah volume dalam ml, suspensi terkonstitusi yang digunakan; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak sefaleksin yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**SEFALEKSIN HIDROKLORIDA**  
**Cephalexin Hydrochloride**

*Asam(6R,7R)-7-[(2R)-2-amino-2-fenilasetamido]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4,2,0]okt-2-ena-2-karboksilat, monohidroklorida, monohidrat [105879-42-3]*  
C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. HCl, H<sub>2</sub>O BM 401,87

Sefaleksin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 800 µg dan tidak lebih dari 880 µg per mg sefaleksin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

**Pemerian** Serbuk hablur putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam aseton, dalam asetonitril, dalam etanol, dalam dimetilformamida dan dalam metanol; praktis tidak larut dalam kloroform, dalam eter, dalam etilasetat dan dalam isopropil alkohol.

**Baku Pembanding** *Sefaleksin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Merupakan bentuk monohidrat Sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup rapat. Pada saat akan digunakan tetapkan kadar air secara titrimetri untuk analisis kuantitatif.

**Identifikasi**

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Totolkan masing-masing 5 µl larutan dalam air yang dibuat dengan bantuan *asam klorida 0,1 N*, yang mengandung (1) zat uji dengan kadar 25 mg per ml dan (2) *Sefaleksin BPFi* dengan kadar 25 mg per ml pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak *etil asetat P - air - asetonitril P* dan *asam asetat glasial P (42:18:14:14)* yang dilapisi kertas saring dan biarkan merambat hingga tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan mengering. Amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm, harga *R<sub>f</sub>* bercak utama yang diperoleh larutan (1) sesuai dengan larutan (2).

B. Spektrum serapan ultraviolet dari larutan zat (1 dalam 50.000) menunjukkan panjang gelombang maksimum dan minimum yang sama dengan larutan *Sefaleksin BPFi* yang diukur bersamaan.

C. Larutan (1 dalam 100) menunjukkan reaksi terhadap *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Sifat hablur <1091>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 1,5 dan 3,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml.

**Air <1031> Metode I** Antara 3,0% dan 6,5%.

**Senyawa sejenis** Tiap senyawa sejenis tidak lebih dari 1,0% dan jumlah keseluruhan tidak lebih dari 5,0%.

*Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Pelarut, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis dalam Sefaleksin*.

*Larutan uji* Timbang saksama 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 5-ml larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur Senyawa sejenis dalam Sefaleksin*. Hitung persentase masing-masing senyawa sejenis sefaleksin yang dari tiap puncak kromatogram yang diperoleh selain dari puncak sefaleksin, dengan rumus :

$$\frac{0,5I}{W \times a}$$

*I* adalah kadar dalam mg per ml tiap senyawa sejenis sefaleksin selain sefaleksin dalam *Larutan uji*; *W* adalah jumlah dalam mg sefaleksin hidroklorida yang digunakan dalam *Larutan uji*; *a* adalah kandungan sefaleksin dalam µg per mg sefaleksin hidroklorida yang digunakan, seperti pada *Penetapan kadar*.

**Dimetilalanin <362>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan secara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan penetapan seperti pada *Penetapan kadar dalam Sefaleksin*.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah 115 mg zat uji, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu bersumbat kaca 50 ml, tambahkan 15,0 ml *Larutan baku internal* dan campur.

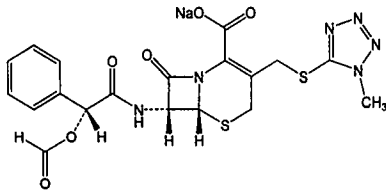
*Prosedur* Lakukan seperti *Prosedur* yang tertera pada *Penetapan kadar dalam, Sefaleksin*. Hitung jumlah dalam µg sefaleksin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S dalam tiap mg sefaleksin hidroklorida dengan rumus:

$$100 \left( \frac{CP}{M} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefaleksin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah kandungan sefaleksin dalam µg per mg *Sefaleksin BPFi*; *M* adalah jumlah dalam mg sefaleksin yang digunakan dalam *Larutan uji* *R<sub>u</sub>* dan *R<sub>s</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefaleksin terhadap 1-hidroksibenzotriazol pada *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat.

**SEFAMANDOL NAFAT**  
**Cefamandol Nafate**



*Natrium(6R,7R)-7-(R)-mandelamido-3-[[1-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)tio]metal]-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-ena-2-karboksilat format (ester) [42540-40-9]*  
 $C_{19}H_{17}N_6NaO_6S_2$  BM 512,50

Sefamandol Nafat mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 810 µg dan tidak lebih dari 1000 µg Sefamandol,  $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$  per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Baku pembanding Sefamandol Nafat BPFi**, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya, dalam tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* campuran etil asetat P-aseton P-asam asetat glasial P-air (5:2:1:1).

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl larutan dalam *Fase gerak* yang mengandung (1) zat uji 10 mg per ml dan (2) *Sefamandol Nafat BPFi* 10 mg per ml pada lempeng kromatografi campuran silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* tidak kurang dari 30 menit dan biarkan merambat hingga tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering di udara. Amati bercak di bawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm, harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

**pH <1071>** Antara 3,5 dan 7,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 100 mg per ml.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 2,0%.

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera sefamandol nafat steril, memenuhi syarat uji *Sterilitas <71>* dan *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Sefamandol Nafat untuk Injeksi*. Jika pada etiket tertera

sefamandol nafat harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, memenuhi syarat uji *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Sefamandol Nafat Untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar**

*Dapar pH 2,3* Larutkan 3,6 g *natrium fosfat dibasa anhidrat P*, 39,4 g *asam sitrat monohidrat P* dan 70,8 g *kalium klorida P* dalam air hingga 1000 ml.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 12 mg *Sefamandol Nafat BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml yang berisi 4 ml air. Segera sebelum digunakan tambahkan 30,0 ml *Dapar pH 2,3*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 12 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml yang berisi 4 ml air. Segera sebelum digunakan tambahkan 30,0 ml *Dapar pH 2,3* dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Masukkan sejumlah *Larutan uji* ke dalam sel polarograf. Lakukan deaerasi selama 5 menit dengan mengalirkan gas *nitrogen P* pada larutan, dan alihkan aliran nitrogen ke permukaan luar. Masukkan elektroda merkuri tetes yang sesuai dengan polarograf seperti tertera pada *Polarografi <1161>* yang dapat mengukur arus listrik sebesar 0,5 mikroamper atau secukupnya untuk mempertahankan pada skala respons, gunakan kapiler ukuran sedang dan kecepatan 1 tetes per detik. Rekam polarogram pada daerah potensial dari -0,3 volt sampai -1,05 volt menggunakan elektroda pembanding kalomel jenuh dan elektroda penghitung kawat platina. Tetapkan puncak tertinggi dalam mikroamper, tinggi puncak merupakan jarak tegak lurus dari ekstrapolasi dasar terhadap titik tertinggi dari puncak yang dibandingkan terhadap rentang arus dengan skala penuh. Dengan cara yang sama tetapkan puncak arus *Larutan baku*. Hitung jumlah dalam µg sefamandol,  $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$ , dalam tiap mg zat dengan rumus:

$$P \left( \frac{W_s}{W_u} \right) \left( \frac{i_u}{i_s} \right)$$

*P* adalah potensi dalam µg sefamandol per mg *Sefamandol Nafat BPFi*;  $W_u$  dan  $W_s$  berturut-turut adalah jumlah sefamandol nafat dalam mg yang digunakan untuk pembuatan *Larutan uji* dan *Larutan baku*;  $i_u$  dan  $i_s$  berturut-turut adalah arus puncak dalam mikroamper dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**Penandaan** Bila akan digunakan untuk sediaan injeksi, pada etiket harus tercantum steril atau harus ditujukan untuk proses selanjutnya selama pembuatan sediaan injeksi.

## SEFAMANDOL NAFAT UNTUK INJEKSI Cefamandol Nafate For Injection

Sefamandol Nafat untuk injeksi adalah campuran steril Sefamandol Nafat dalam satu atau lebih dapar yang sesuai. Mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 810 µg dan tidak lebih dari 1000 µg per mg sefamandol,  $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$ , dihitung terhadap zat anhidrat dan bebas natrium karbonat. Mengandung setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0%  $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefamandol Nafat BPFi*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya, dalam tempat dingin. *Endotoksin BPFi*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Pada waktu digunakan memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Identifikasi** Lakukan seperti tertera pada *Identifikasi* dalam *Sefamandol Nafat*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,15 unit Endotoksin FI per mg sefamandol.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan Membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas*.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat; lakukan penetapan pada setiap wadah menggunakan cara *Penetapan kadar 1* atau *Penetapan kadar 2* atau keduanya.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 8,0; lakukan penetapan setelah 30 menit pembuatan larutan yang mengandung sefamandol 100 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 3,0%.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

### Penetapan kadar

*Dapar pH 2,3* dan *Larutan baku* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefamandol Nafat*.

*Larutan uji 1* (Jika sediaan dalam wadah dosis tunggal) Konstitusikan sefamandol nafat untuk injeksi dengan sejumlah volume air yang diukur saksama yang sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Ke luaran semua isi wadah menggunakan jarum

hipodermik dan siring, encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 30,0 ml *Dapar pH 2,3*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 2* (Jika pada etiket tertera jumlah sefamandol dalam volume larutan yang diberikan). Konstitusikan sefamandol nafat untuk injeksi dengan sejumlah volume air yang diukur saksama yang sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Ukur saksama sejumlah volume larutan terkonstitusi, encerkan dengan air hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 30,0 ml *Dapar pH 2,3*; encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 3* Timbang saksama sejumlah sefamandol nafat untuk injeksi, lakukan seperti tertera pada *Larutan baku* dalam *Sefamandol Nafat*. Tetapkan kandungan natrium karbonat secara terpisah menggunakan 1 g sefamandol nafat untuk injeksi yang ditimbang saksama, larutkan dalam 100 ml air. Tambahkan *jingga metil LP*, titrasi dengan *asam sulfat 0,2 N LV*.

*Tiap ml asam sulfat 0,2 N*  
*setara dengan 10,60 mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.*

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Sefamandol Nafat*. Hitung jumlah dalam mg sefamandol,  $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$ , dalam larutan terkonstitusi dengan rumus :

$$(CP) \left( \frac{L}{1000D} \right) \left( \frac{i_u}{i_s} \right)$$

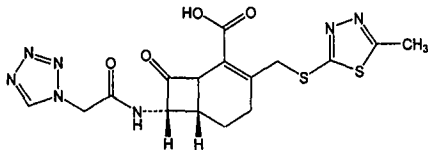
*C* adalah kadar *Sefamandol Nafat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *L* adalah jumlah dalam mg bagian larutan terkonstitusi yang tertera pada etiket yang digunakan; *D* adalah kadar sefamandol dalam mg per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji*. Hitung kadar sefamandol dalam µg per ml dalam sefamandol nafat untuk injeksi dengan rumus:

$$\left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{i_u}{i_s} \right)$$

*W* adalah jumlah dalam mg sefamandol nafat untuk injeksi yang digunakan dalam tiap ml *Larutan uji 3*, dan ketentuan lain seperti yang ditetapkan di dalamnya. Jika uji *Keseragaman kandungan* <911> yang telah dilakukan menggunakan *Prosedur untuk keseragaman kandungan*, gunakan rata-rata penetapan tersebut sebagai harga *Penetapan kadar*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah padatan steril seperti tertera pada *Injeksi*.

**SEFAZOLIN**  
**Cefazolin**



(6*R*, 7*R*)-3-[[[(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)tio]metil]-8-okso-7-[2-1*H*-tetrazol-1-il]asetamido]-5-tia-1-azabisiklo [4.2.0] ok-2-en-2-asam karboksilat [25953-19-9]  
C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S BM 454,51

Sefazolin mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 103,0% C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai hampir putih, tidak berbau.

**Kelarutan** Larut dalam dimetilformamida dan dalam piridin; agak sukar larut dalam aseton; sukar larut dalam etanol, dalam metanol dan dalam air; sangat sukar larut dalam etil asetat, dalam isopropil alkohol, dan dalam metil isobutil keton; praktis tidak larut dalam benzen, dalam kloroform, dalam eter dan dalam metilen klorida.

**Baku pembanding** Sefazolin BPHI, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada tempat yang dingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Jarak lebur** <1021> Antara 198° dan 200°.

**Air** <1031> Metode I Tidak lebih dari 2,0%.

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 20 bpj.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Dapar pH 3,6 Timbang 0,900 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dan 1,298 g asam sitrat monohidrat P, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Dapar pH 7,0 Timbang 5,68 g natrium fosfat dibasa anhidrat P dan 3,63 g kalium fosfat monobasa P, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Fase gerak Buat campuran Dapar pH 3,6-asetonitril P (9:1). Saring melalui penyaring membran dengan porositas 10 µm atau lebih kecil, dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku internal Timbang 750 mg asam salisilat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml

larutkan dengan 10 ml metanol P, encerkan dengan Dapar pH 7,0 sampai tanda.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 25 mg Sefazolin BPHI masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan Dapar pH 7,0 sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Dapar pH 7,0 sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan Dapar pH 7,0 sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Dapar pH 7,0 sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4,0 mm, berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif asam salisilat dan sefazolin berturut-turut lebih kurang 0,7 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak analit dan baku internal tidak kurang dari 4,0; efisiensi kolom tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis; faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0 %.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respon puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sefazolin, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000 C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar Sefazolin BPHI dalam mg per ml Larutan baku, dihitung terhadap zat anhidrat, R<sub>U</sub> dan R<sub>S</sub> berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefazolin terhadap baku internal yang diperoleh dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**INJEKSI SEFAZOLIN**  
**Cefazolin Injection**

Injeksi Sefazolin adalah larutan steril Sefazolin dan Natrium bikarbonat dalam pelarut yang mengandung satu atau lebih senyawa pengatur tonisitas yang sesuai. Mengandung Sefazolin, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Sefazolin BPFI**, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada tempat yang dingin; *Endotoksin BPFI*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji** sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,15 unit *Endotoksin BPFI* per mg sefazolin.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas*.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 7,0.

**Bahan Partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi Volume Kecil*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan kadar dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 3,6, Dapar pH 7,0, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi* lakukan seperti pada *Penetapan kadar* dalam *Sefazolin*.

*Larutan uji* Biarkan satu wadah injeksi dalam suhu ruang hingga mencair. Pipet sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 50 mg sefazolin, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan *Dapar pH 7,0* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Penetapan kadar Sefazolin*. Hitung jumlah dalam mg sefazolin,  $C_{14}H_{14}N_6O_4S_3$ , dalam injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefazolin BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*, *V* adalah volume dalam ml injeksi yang digunakan;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefazolin terhadap baku internal yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah untuk injeksi seperti tertera pada *Injeksi*. Simpan dalam keadaan beku.

**Penandaan** Memenuhi persyaratan untuk penandaan *Injeksi*. Etiket menyatakan bahwa injeksi harus

dikeluarkan pada saat akan digunakan. Tuliskan kondisi-kondisi untuk penyimpanan hasil larutan yang sesuai dan petunjuk bahwa larutan tidak boleh dibekukan.

## SEFAZOLIN NATRIUM Cefazolin Sodium

*Mono natrium (6R,7R)-3-[[[(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)tio]metil]-8-okso-7-[2-1H-tetrazol-1-il]asetamido]-5-tia-1-azabisiklo [4,2,0] ok-2-ene-2-asam karboksilat [27164-46-1]*  
 $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$  BM 476,49

Sefazolin Natrium mengandung tidak kurang dari 89,1% dan tidak lebih dari 110,1%,  $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai hampir putih, praktis tidak berbau, serbuk hablur atau padatan; putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam *salin LP*, dan dalam larutan dekstrosa; sangat sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding Sefazolin BPFI**, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada tempat yang dingin; *Endotoksin BPFI*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan zat dalam natrium bikarbonat 0,1 M (20 µg per ml) menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sefazolin Natrium BPFI*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

C. Menunjukkan reaksi *Natrium* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Rotasi jenis <1081>** Antara -10° dan -24°; Lakukan penetapan menggunakan larutan 55 mg per ml dalam *natrium bikarbonat 0,1 M*.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 100 mg per ml.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 6,0%.

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera sefazolin natrium steril, memenuhi syarat uji *Sterilitas <71>* dan *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Sefazolin*

untuk Injeksi. Jika pada etiket tertera sefazolin natrium harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, harus memenuhi uji *Sterilitas* <71> dan *Endotoksin bakteri* <201> seperti tertera pada *Sefazolin untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 3,6, Dapar pH 7,0, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku, Sistem kromatografi*, buatseperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefazolin*.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefazolin*. Hitung jumlah dalam mg sefazolin natrium,  $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{476,49}{454,51} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

476,49 dan 454,51 berturut-turut adalah bobot molekul dari sefazolin natrium dan sefazolin; *C* adalah kadar *Sefazolin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak antara sefazolin natrium terhadap baku internal yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat.

## SEFAZOLIN NATRIUM STERIL Cefazolin Sodium for Injection

*Natrium (6R, 7R)-3-[[[5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il]tiol]-metil]-8-okso-7-[-2-(1*h*-tetrazol-1-il)asetamido]-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-ena-2-karboksilat* [27164-46-1]  
 $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$  BM 476,48

Sefazolin Natrium Steril mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 850 µg dan tidak lebih dari 1050 µg sefazolin  $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ , per mg dihitung terhadap zat anhidrat. Bila dalam kemasan untuk sediaanannya, mengandung Sefazolin setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai hampir putih, praktis tidak berbau, atau padatan putih sampai hampir putih dengan penampakan yang khas dalam kloroform dan dalam eter.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, dalam larutan *natrium klorida P 0,9 %*, dan dalam dekstrosa; sangat sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Sefazolin BPFi*, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Endotoksin BPFi*.

**Larutan terkonstitusi** Pada saat digunakan larutan terkonstitusi yang diperoleh dari Sefazolin Natrium Steril memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan zat (1 dalam 50.000) dalam *natrium bikarbonat* 0,1 M menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti *Sefazolin BPFi*.

B. *Kromatogram Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar* menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi seperti *kromatogram Larutan baku*.

C. Menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -24° dan -10°; lakukan penetapan menggunakan 55 mg per ml dalam larutan *natrium bikarbonat* 0,1 M, dihitung sebagai anhidrat.

**Endotoksin bakteri** <201> Mengandung tidak lebih dari 0,15 unit Endotoksin FI per mg sefazolin.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Prosedur uji menggunakan penyaringan membran*.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 100 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 6,0%.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi Volume Kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Keseragaman Sediaan* <911> dan *Penandaan* pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 3,6*, Larutkan 900 mg *natrium fosfat* dibasa anhidrat P dan 1,298 g asam sitrat monohidrat dalam air hingga 1000 ml.

*Dapar pH 7,0* Larutkan 5,68 g *natrium fosfat* dibasa anhidrat P dan 3,63 g *kalium fosfat monobasa P* dalam air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan dapar pH 3,6 - asetonitril P* (9:1) saring melalui penyaring membran dengan porositas 1 µm atau lebih kecil dan awaudarakan



Larutan baku internal Masukkan 750 mg asam salisilat P ke dalam labu tentukur 100-ml larutan dalam 5 ml metanol P encerkan dengan Larutan dapar pH 7,0 sampai tanda, campur.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 50 mg Sefazolin BPFI masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml larutkan dan encerkan dengan Larutan dapar pH 7,0 sampai tanda, campur. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Larutan dapar pH 7,0 sampai tanda, campur.

Larutan uji 1 Timbang saksama lebih kurang 50 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan Larutan Dapar pH 7,0 sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Larutan Dapar pH 7,0 sampai tanda.

Larutan uji 2 (Bila dalam kemasan untuk sediaan dalam wadah dosis tunggal) Timbang saksama sejumlah sefazolin natrium steril, konstitusikan dalam air dengan volume secukupnya seperti tertera pada etiket. Ambil sebanyak mungkin isi menggunakan alat suntik yang dilengkapi jarum hipodermik dan encerkan dengan Larutan dapar pH 7,0 hingga diperoleh larutan persediaan dengan kadar 1 mg sefazolin per ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku internal encerkan dengan Larutan dapar pH 7,0 sampai tanda, campur.

Larutan uji 3 (Untuk sediaan yang menyebutkan jumlah sefazolin dalam sejumlah volume larutan terkonstitusi seperti tertera pada etiket). Timbang saksama sejumlah sefazolin natrium steril, konstitusikan dalam air dengan volume seperti tertera pada etiket. Encerkan sejumlah volume larutan terkonstitusi dengan Larutan dapar pH 7,0 hingga diperoleh larutan persediaan dengan kadar 1 mg sefazolin per ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku internal encerkan dengan Larutan dapar pH 7,0 sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm, kolom 30 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom yang ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis; faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 1,5; resolusi, R, antara puncak analit dan puncak baku internal tidak kurang dari 4,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0 %

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif asam salisilat dan sefazolin berturut-turut adalah lebih kurang 0,7 dan 1,0. Hitung jumlah sefazolin natrium,

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, dalam µg per ml sefazolin steril dari Larutan uji 1 dengan rumus:

$$\left(\frac{W_s}{W_u}\right)\left(\frac{R_u}{R_s}\right)P$$

W<sub>U</sub> adalah bobot dalam mg sefazolin natrium steril yang digunakan; W<sub>S</sub> adalah bobot dalam mg Sefazolin BPFI dari Larutan baku; P adalah µg sefazolin per mg Sefazolin BPFI; R<sub>U</sub> dan R<sub>S</sub> berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefazolin terhadap baku internal yang diperoleh dari Larutan uji dan Larutan baku.

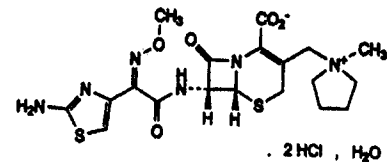
Hitung jumlah, dalam mg sefazolin, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, dalam wadah dosis tunggal dan dalam volume larutan terkonstitusi dengan rumus:

$$\left(\frac{L}{D}\right)\left(\frac{W_s}{50.000}\right)\left(\frac{R_u}{R_s}\right)P$$

L adalah jumlah dalam mg sefazolin yang tertera pada etiket dalam wadah dosis tunggal atau volume larutan terkonstitusi; D adalah kadar sefazolin dalam mg per ml Larutan uji 2 atau Larutan uji 3 sebelum diencerkan.

Wadah dan penyimpanan Dalam Wadah untuk Padatan Steril seperti tertera pada Injeksi

### SEFEPIM HIDROKLORIDA Cefepime Hydrochloride



1- [[(6R,7R) -7- [2-(2-Amino-4-tiazolil) glioksilamido] -2-karboksi -8-okso-5-tia-1- azabisiklo [4.2.0] okt-2-en-3-il] metil] -1- metilpirolidinium klorida, 7<sup>2</sup>-(Z)-(o-metiloksim), monohidroklorida, monohidrat [123171-59-5]  
C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> · 2HCl · H<sub>2</sub>O BM 571,50

Sefepim Hidroklorida mengandung setara dengan tidak kurang dari 825 µg dan tidak lebih dari 911 µg Sefepim, C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, per mg, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Hablur putih sampai hampir putih, tidak higroskopik.

Kelarutan Mudah larut dalam air.

Baku pembanding Sefepim Hidroklorida BPFI; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam tempat dingin, terlindung cahaya. Lakukan penetapan

kadar air secara titrimetri untuk penggunaan kuantitatif, pada saat akan digunakan. *Sefepim Hidroklorida Kesesuaian Sistem BPF1*: campuran senyawa sejenis A sefepim hidroklorida; *Senyawa sejenis B sefepim hidroklorida* garam inert dan sefepim hidroklorida. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, dalam wadah tertutup rapat, simpan di tempat gelap dan dingin. *Endotoksin BPF1*; [Catatan pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Identifikasi Spektrum serapan inframerah** zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama dengan *Sefepim Hidroklorida BPF1*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,04 unit Endotoksin FI per mg sefepim hidroklorida; Jika pada etiket tercantum sefepim hidroklorida steril atau perlu proses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi.

**Air** <1031> *Metode I* Antara 3,0% dan 4,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**N-metilpirolidin** Tidak lebih dari 0,3%; Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran *asam nitrat 0,01 N - asetonitril P* (100:1) saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan pembilas kolom* Pipet 5 ml *asam nitrat P* ke dalam labu tentukur 1000-ml. Encerkan dengan air sampai tanda. Pindahkan larutan ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 1000 ml *asetonitril P*.

*Larutan baku* Timbang saksama 0,16 ml N-metilpirolidin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 4 ml larutan, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *asam nitrat 0,01 N* sampai tanda. Larutan ini mengandung N-metilpirolidin lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *asam nitrat 0,01 N* sampai tanda. [Catatan Larutan ini dapat bertahan selama 6 jam jika disimpan pada suhu 5°, jika tidak gunakan larutan dalam waktu 30 menit.]

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor konduktivitas dan kolom 5 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi L52 dengan

ukuran partikel 5 µm dan disarankan menggunakan kolom pelindung 5 cm x 4,4 mm berisi bahan pengisi L17 yang ditempatkan diantara pompa dan injektor. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Latar belakang konduktansi spesifik lebih kurang 3500 µS. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi N-metilpirolidin tidak kurang dari 8 menit; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak N-metilpirolidin. Hitung persentase N-metilpirolidin dalam zat dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar N-metilpirolidin dalam mg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot sefepim hidroklorida dalam mg, dalam *Larutan uji*,  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak N-metilpirolidin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*. [Catatan *Sefepim dari Larutan uji* tereluasi sebagai puncak yang lebar pada lebih kurang 55 menit. Untuk meminimalkan waktu yang diperlukan untuk mencapai kesetimbangan pada hari berikutnya disarankan detektor dijalankan malam sebelumnya sehingga fase gerak dialirkan semalam dengan laju alir 0,2 ml per menit. Setelah setiap penyuntikan *Larutan uji*, disarankan kromatograf dialiri dengan *Larutan pembilas kolom* selama 30 menit dengan laju alir 1,0 ml per menit sampai sefepim terbuang dari kolom dan kromatograf dikembalikan ke fase gerak dengan laju alir 1 ml per menit untuk kesetimbangan.]

**Senyawa sejenis** *Senyawa sejenis A sefepim* tidak lebih dari 0,3%; *senyawa sejenis B sefepim* tidak lebih dari 0,2%; dan *cemaran lain* tidak lebih dari 0,1%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan kalium fosfat* Timbang 0,68 g *kalium fosfat monobasa P*, larutkan dalam 1000 ml air.

*Larutan A* Buat campuran *Larutan kalium fosfat - asetonitril P* (9:1). Atur pH hingga 5,0 dengan penambahan *kalium hidroksida P* atau *asam fosfat P*, saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Buat campuran *Larutan kalium fosfat - asetonitril P* (1:1). Atur pH hingga 5,0 dengan penambahan *kalium hidroksida P* atau *asam fosfat P*, saring dan awaudarakan.

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang sejumlah *Sefepim Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam *Larutan A* hingga kadar lebih kurang 1,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 70 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. [Catatan Suntikkan larutan ini segera, atau simpan dalam lemari pendingin dan disuntikkan dalam waktu 12 jam.]

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-10	100	0	Isokratik gradien linier
10-30	100→50	0→50	
30-35	50	50	Isokratik gradien linier
35-36	50 →100	50→0	

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak sefepim dan senyawa sejenis *A* sefepim tidak kurang dari 5,0; antara puncak senyawa sejenis *A* sefepim dan senyawa sejenis *B* sefepim tidak kurang dari 10. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan uji*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas, *k'*, tidak lebih dari 0,6; efisiensi kolom tidak kurang dari 4000 lempeng teoritis; dan faktor ikutan tidak lebih dari 1,5. [Catatan Untuk tujuan identifikasi, waktu retensi relatif sefepim, senyawa sejenis *A* sefepim dan senyawa sejenis *B* sefepim berturut-turut lebih kurang 1,0; 2,7 dan 4,3]

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dan *r<sub>s</sub>* adalah jumlah semua respons puncak.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan bahwa sefepim hidroklorida steril, maka harus memenuhi syarat *Sterilitas <71>* seperti tertera pada *Sefepim untuk injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan natrium 1-pentansulfonat* Timbang 5,76 g *natrium 1-pentansulfonat P*, larutkan dalam 2000 ml air. Atur pH hingga 3,4 dengan penambahan *asam asetat glasial P*, dan kemudian atur pH hingga 4,0 dengan penambahan *kaliium hidroksida LP*.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan natrium 1-pentansulfonat - asetonitril P* (94:6) saring dan

awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefepim Hidroklorida BPFI*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama kurang lebih 70 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 1,7; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg sefepim,  $C_{19}H_{24}N_6O_5S_2$ , tiap mg zat dengan rumus:

$$50 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefepim Hidroklorida BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah kandungan sefepim dalam µg per mg *Sefepim Hidroklorida BPFI*; *W* adalah bobot sefepim hidroklorida dalam mg *Larutan uji*, *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya pada suhu ruang terkendali.

## SEFEPIM UNTUK INJEKSI Cefepime for Injection

Sefepim untuk Injeksi adalah campuran steril sefepim hidroklorida dan arginin. Mengandung Sefepim Hidroklorida setara dengan Sefepim,  $C_{19}H_{24}N_6O_5$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefepim Hidroklorida BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah terlindung cahaya. Lakukan penetapan kadar air secara *Titrimetri*. *Sefepim Hidroklorida Kesesuaian sistem BPFI*; campuran senyawa sejenis *A* sefepim hidroklorida; senyawa sejenis *B* sefepim dan sefepim hidroklorida. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah gelap dan tertutup rapat, pada tempat dingin. *Endotoksin BPFI*; [Catatan *pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi seluruh isi,

gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Larutan baku* Buat larutan arginindengan kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Larutan uji* Buat larutan sefepim untuk injeksi dengan kadar lebih kurang 40 mg per ml.

*Fase gerak* Buat campuran *n-propanol P-air-amonium hidroksida P* (7:5:4).

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Identifikasi secara kromatografi lapis tipis* <281> kecuali semprot lempeng menggunakan *ninhidrin LP*. Bercak arginin berwarna merah tua. Harga  $R_f$  dan intensitas bercak utama dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Larutan terkonstitusi** Pada waktu digunakan memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,06 unit Endotoksin FI per mg sefepim.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada uji *Sterilitas*.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 100 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 4,0%.

**N-metilpirolidin** Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *N-metilpirolidin* dalam *Sefepim hidroklorida*.

*Larutan uji* Konstitusikan isi 1 wadah sefepim untuk injeksi dengan sejumlah volume air seperti tertera dalam etiket. Encerkan sejumlah larutan terkonstitusi yang telah diukur saksama dengan *asam nitrat 0,05 N* hingga kadar sefepim lebih kurang 10 mg per ml. [*Catatan Gunakan larutan segera setelah dibuat.*]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak N-metilpirolidin. Hitung persentase N-metilpirolidin dalam serbuk injeksi dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *N-metilpirolidin* dalam mg per ml *Larutan baku*; *D* adalah kadar sefepim dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Senyawa sejenis** Masing-masing senyawa sejenis A sefepim, senyawa sejenis B sefepim tidak lebih dari 0,5% dan masing-masing cemaran lain tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan kalium fosfat, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis* dalam *Sefepim Hidroklorida*.

*Larutan uji* Konstitusikan isi 1 wadah sefepim untuk injeksi dengan sejumlah volume *Larutan A* seperti yang tertera dalam etiket. Pipet sejumlah volume larutan terkonstitusi ke dalam labu tentukur yang sesuai, encerkan dengan *Larutan A* hingga kadar sefepim lebih kurang 2 mg per ml. [*Catatan Gunakan larutan segera setelah dibuat atau simpan dalam lemari pendingin dan gunakan dalam waktu kurang dari 12 jam*]

*Prosedur* Suntikkan 10  $\mu$ l *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam serbuk untuk injeksi dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran; dan  $r_s$  adalah jumlah semua respons puncak.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefepim Hidroklorida*.

*Larutan uji* Konstitusikan isi 1 wadah sefepim untuk injeksi sesuai dengan sejumlah volume air seperti tertera pada etiket. Ambil semua isi menggunakan jarum dan alat suntik hipodermik yang sesuai dan encerkan secara kuantitatif dengan *Fase gerak* hingga kadar sefepim lebih kurang 1 mg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sefepim,  $C_{19}H_{24}N_6O_5S_2$ , dalam serbuk untuk injeksi yang digunakan dengan rumus:

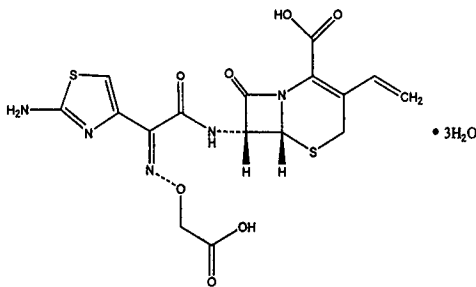
$$0,001CPD \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Sefepim Hidroklorida BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah kandungan sefepim dalam µg per mg *Sefepim Hidroklorida BPFI*; D adalah faktor pengenceran *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, seperti tertera pada *Wadah untuk padatan steril dalam Injeksi*. Simpan dalam lemari pendingin atau pada suhu ruang terkontrol. Simpan serbuk terkonstitusi dalam lemari pendingin selama tidak lebih dari 7 hari.

**Penandaan** Pada etiket dinyatakan, diencerkan dengan pembawa parenteral yang sesuai, sebelum digunakan untuk infus intravena.

### SEFIKSIM Cefixime



*Asam (6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-tiazolil) glioksilamido]-8-okso-3-vinil-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-ena-2-karboksilat, 7-(Z)-[O-(karboksimetil)oksima]trihidrat*  
[79350-37-1]  
 $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2 \cdot 3H_2O$  BM 507,50  
Anhidrat BM 453,46

Sefiksim mengandung tidak kurang dari 950 µg dan tidak lebih dari 1030 µg  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$  per mg, dihitung berdasarkan zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur putih hingga kuning muda.

**Kelarutan** Mudah larut dalam metanol; larut dalam propilen glikol; sukar larut dalam etanol, dalam aseton dan dalam gliserin; sangat sukar larut dalam larutan sorbitol 70% dan dalam oktanol; praktis tidak larut dalam eter, dalam etil asetat, dalam heksan dan dalam air.

**Baku pembanding** *Sefiksim BPFI* merupakan bentuk trihidrat dari sefiksim. Tidak boleh dikeringkan. Untuk keperluan kuantitatif lakukan penetapan kadar air secara titrimetri pada saat digunakan dan gunakan nilai 986 µg per mg sefiksim berdasarkan zat anhidrat. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan

maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sefiksim BPFI*. Lakukan penetapan dengan membuat spesimen uji sebagai berikut: buat larutan dengan menggerus 5 mg zat uji dalam 2 ml *metanol P*, uapkan dengan pemanasan perlahan hingga kering.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -75° dan -88°.

**Larutan uji** Buat larutan 10 mg per ml dalam larutan *natrium bikarbonat* (2 dalam 100).

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 2,6 dan 4,1 dengan menggunakan larutan 0,7 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Antara 9,0% dan 12,0%.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Lapis Tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Tiap cemaran tidak lebih dari 1,0% dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%.

**Larutan tetrabutylamonium hidroksida, Fase gerak.** *Larutan kalium fosfat monobasa, Dapar fosfat pH 7,0, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Larutan baku** Gunakan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Larutan uji** Gunakan *Larutan uji* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Prosedur** Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase tiap cemaran dalam zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$0,1P \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

P adalah potensi sefiksim dalam µg per mg yang dihitung dalam *Penetapan kadar*;  $r_i$  adalah respons puncak tiap cemaran dan  $r_s$  adalah respons puncak sefiksim.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan tetrabutylamonium hidroksida** Encerkan 25 ml *larutan tetrabutylamonium hidroksida 0,4 M* dengan air hingga 1000 ml, atur pH hingga 6,5 dengan penambahan *asam fosfat 1,5 M*.

**Fase gerak** Buat campuran *Larutan terabutylamonium hidroksida-asetonitril P* (3:1), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan kalium fosfat monobasa** Larutkan 6,8 g *kalium fosfat monobasa P* dalam air hingga 500 ml.

**Dapar fosfat pH 7,0** Larutkan 7,1 g *natrium fosfat dibasa anhidrat P* dalam air hingga 500 ml. Atur pH

hingga 7,0 dengan penambahan Larutan kalium fosfat monobasa.

**Larutan resolusi** Buat larutan Sefiksim BPFi dalam air hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 1 mg per ml. Panaskan larutan ini pada 95° dalam tangas minyak selama 45 menit, dinginkan dan gunakan segera.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Sefiksim BPFi larutkan dalam Dapar fosfat pH 7,0 hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 0,2 mg per ml. Gunakan segera.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 110 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan Dapar fosfat pH 7,0 sampai tanda. Pindahkan 10,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan Dapar fosfat pH 7,0 sampai tanda. Gunakan segera.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 12,5 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 4 µm. Laju alir diatur hingga diperoleh waktu retensi sefiksim lebih kurang 10 menit. Pertahankan kolom pada suhu tetap lebih kurang 40°. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif untuk isomer (E) sefiksim dan sefiksim lebih kurang adalah 0,9 dan 1,0. resolusi, R, antara sefiksim dan isomer (E) sefiksim tidak kurang dari 2,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom tidak kurang dari 4000 lempeng teoritis jika dihitung dengan rumus:

$$5,545 \left( \frac{t}{W_{h/2}} \right)^2$$

*t* adalah waktu retensi zat dan  $W_{h/2}$  adalah lebar puncak pada setengah tinggi.

Faktor ikutan puncak analit tidak kurang dari 0,9 dan tidak lebih dari 2,0 jika dihitung dengan rumus:

$$\frac{W_{0,1}}{2f}$$

$W_{0,1}$  adalah lebar puncak pada ketinggian 10%; *f* adalah jarak dari maksimum puncak sampai tepi muka puncak, diukur pada titik dengan ketinggian 5% dari tinggi puncak terhadap garis dasar. Dan simpangan baku relatif pada penyuntikkan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg sefiksim,  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ , dalam tiap mg zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$500.000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar sefiksim dalam mg per ml Larutan baku; *W* adalah jumlah sefiksim dalam mg yang digunakan dalam Larutan uji;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TABLET SEFIKSIM Cefixime Tablet

Tablet Sefiksim mengandung Sefiksim,  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Sefiksim BPFi** merupakan bentuk trihidrat dari sefiksim. Tidak boleh dikeringkan. Untuk keperluan kuantitatif lakukan penetapan kadar air secara titrimetri pada saat digunakan dan gunakan nilai 986 µg per mg sefiksim berdasarkan zat anhidrat. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama Larutan uji sesuai dengan puncak utama Larutan baku seperti yang diperoleh Penetapan kadar.

### Disolusi <1231>

Dapar kalium fosfat 0,05 M pH 7,2 Larutkan 6,8 g kalium fosfat monobasa P dalam 1000 ml air, atur pH dengan penambahan natrium hidroksida 1 N hingga 7,2.

Media disolusi: 900 ml Dapar kalium fosfat 0,05 M pH 7,2.

Alat tipe 1: 100 rpm.

Waktu: 45 menit.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah sefiksim  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 288 nm, jika perlu diencerkan dengan Media disolusi. Lakukan pembandingan dengan Larutan baku dengan media yang sama. [Catatan Jumlah metanol tidak lebih dari 0,1% total volume yang digunakan untuk melarutkan Baku pembanding sebelum diencerkan dengan Media disolusi, larutan dapat disonikasi untuk membantu kelarutan dari baku pembanding.]

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 10,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan tetrabutylamonium hidroksida, Fase gerak, Dapar fosfat pH 7,0, Larutan resolusi, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefiksime*.

*Larutan uji* Timbang dan serbuk haluskan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 400 mg sefiksim, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 75 ml *Dapar fosfat pH 7,0*, sonikasi. Encerkan dengan *Dapar fosfat pH 7,0* sampai tanda, dan sentrifus. Masukkan 5,0 ml cairan bening ke dalam labu tentukur 100-ml kedua, encerkan dengan *Dapar fosfat pH 7,0* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefiksime*. Hitung jumlah dalam mg sefiksim,  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$2000 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar sefiksim dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## SEFIKSIM UNTUK SUSPENSI ORAL

### Cefixime for Oral Suspension

Sefiksime untuk Suspensi Oral adalah campuran kering sefiksim dengan satu atau lebih pengencer, penambah rasa, pengawet dan bahan pensuspensi yang sesuai. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0%  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$  per ml larutan terkonstitusi dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefiksime BPF1* merupakan bentuk trihidrat dari sefiksim. Tidak boleh dikeringkan. Untuk keperluan kuantitatif lakukan penetapan kadar air secara titrimetri pada saat digunakan dan gunakan nilai 986 µg sefiksim per mg berdasarkan zat anhidrat. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan puncak utama *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat, untuk padatan yang dikemas dalam wadah dosis tunggal.

**Volume berpindahkan <1261>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 2,5 dan 4,5, lakukan penetapan menggunakan suspensi yang terkonstitusi seperti tertera pada etiket.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 2,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan tetrabutylamonium hidroksida, Fase gerak, Dapar fosfat pH 7,0, Larutan resolusi, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefiksime*.

*Larutan uji* Konstitusi sefiksim untuk suspensi oral seperti tertera pada etiket. Ukur saksama sejumlah volume suspensi yang dibuat baru dan bebas dari gelembung udara, encerkan secara kuantitatif dengan *Dapar fosfat pH 7,0* hingga diperoleh larutan dengan kadar 0,2 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefiksime*. Hitung jumlah dalam mg sefiksim,  $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ , per ml suspensi terkonstitusi yang dibuat dari Sefiksime untuk Suspensi Oral dengan rumus:

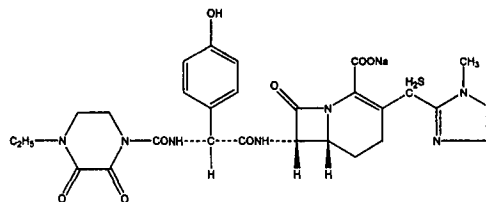
$$\left( \frac{LC}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*L* adalah jumlah sefiksim dalam mg per ml suspensi terkonstitusi seperti tertera pada etiket; *C* adalah kadar sefiksim dalam mg per ml *Larutan baku*; *D* adalah kadar sefiksim dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket dan faktor pengenceran;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## SEFOPERAZON NATRIUM

### Cefoperazone Sodium



*Natrium (6R, 7R)-7-[(R)-2-(5-etil-2,3-dioksa-1-piperazinkarboksamido)-2-(p-hidroksifenil)asetamido]-3-[(1-metil-H-tetrazol-5-il)tio]metil]-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-ena-2-karboksilat[62893-20-3]*  
 $C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$  BM 667,65

Sefoperazon Natrium mengandung setara dengan tidak kurang dari 870 µg, tidak lebih dari 1015µg sefoperazon

(C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>9</sub>NaO<sub>8</sub>S<sub>2</sub>) per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian Serbuk** hablur, putih hingga kuning pucat.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air dan dalam metanol; agak sukar larut dalam etanol mutlak; tidak larut dalam aseton, dalam etil asetat dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Sefoperazon Dihidrat BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan

#### Identifikasi

A. Kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar* menunjukkan puncak utama sefoperazon dengan waktu retensi yang sama seperti pada *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat. [Catatan Dalam bentuk beku kering dibebaskan dari persyaratan ini.]

**pH** <1071> Antara 4,5 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 4)

**Air** <1031> *Metode 1* Tidak lebih dari 5,0 %, kecuali dalam beku bentuk kering, tidak lebih dari 2,0 %

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Masukkan 14 ml *trietilamin P* dan 5,7 ml *asam asetat glasial P* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Buat campuran larutan ini dengan *asam asetat 1 N-asetonitril P-air* (1,2:2,8:120:876). Saring melalui penyaring membran dengan porositas 1 µm atau lebih kecil dan awaudarkan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefoperazon Dihidrat BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,16 mg sefoperazon, C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>9</sub>NaO<sub>8</sub>S<sub>2</sub> per ml

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, lanjutkan seperti pada *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0 % dan faktor ikutan tidak lebih dari 1,5

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung

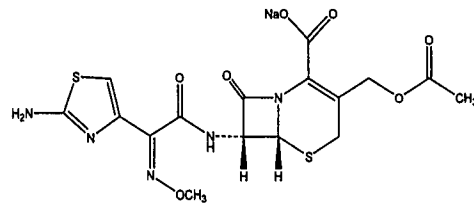
jumlah sefoperazon, dalam µg per mg sefoperazon natrium yang digunakan, dengan rumus

$$1000 \left( \frac{C}{M} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar sefoperazon, C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>9</sub>NaO<sub>8</sub>S<sub>2</sub> dalam mg per ml *Larutan baku*; *M* adalah kadar dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan bobot yang ditimbang dan faktor pengenceran; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SEFOTAKSIM NATRIUM Cefotaxime Sodium



*Natrium (6R,7R) -7- [2- (2-amino-4-tiazolil) gliksil amida]- 3 (hidroksimetil)-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4,2,0] okt-2-ene-2-karboksilat 7<sup>2</sup>-(Z) -(O-metiloksim), asetat (ester) [64485-9304]*

C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub>S<sub>2</sub>

BM 477,45

Sefotaksim Natrium mengandung Sefotaksim, C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub>S<sub>2</sub>, tidak kurang dari 916 µg dan tidak lebih dari 964 µg per mg, dihitung terhadap zat yang dikeringkan.

**Pemerian Serbuk** hablur putih atau agak kuning.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam pelarut organik.

**Baku pembanding** *Sefotaksim Natrium BPFi* Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya dan simpan dalam lemari pendingin.

**Kejernihan dan warna larutan** Masukkan 2,5 g zat ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan air bebas karbon dioksida sampai tanda, campur; terbentuk larutan jernih. Ukur segera serapan larutan pada panjang gelombang lebih kurang 430 nm, menggunakan air bebas karbon dioksida sebagai blanko, serapan tidak lebih dari 0,20. Masukkan 10 ml larutan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml *asam asetat glasial P*. Campur dan amati segera, larutan jernih.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kaliun bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan



gelombang yang sama seperti *Sefotaksim Natrium BPFI*.

B. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

C. Menunjukkan reaksi natrium seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Rotasi jenis <1081>** Antara +58° dan +64°; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 10 mg per ml.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10).

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 3,0%; lakukan pengeringan pada suhu 100° sampai 105° selama 3 jam.

**Kemurnian kromatografi** Gunakan kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*, hitung persentase masing-masing cemaran dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_{is} + r_c} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak cemaran;  $r_{is}$  adalah jumlah respons puncak semua cemaran;  $r_c$  adalah respons puncak utama sefotaksim [Catatan Abaikan puncak cemaran yang kurang dari 0,1%.] Tiap cemaran tidak lebih dari 1,0% dan total cemaran tidak lebih dari 3,0%.

**Syarat lain** Bila dinyatakan steril pada etiket, memenuhi syarat *Sterilitas <71>*, lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji sterilitas* dari produk yang diuji dan *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Injeksi Sefotaksim*. Bila dalam etiket tertera *Sefotaksim natrium* dimaksudkan untuk diproses lebih lanjut selama penyajian bentuk sediaan injeksi, memenuhi syarat *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Sefotaksim Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan dapar fosfat 0,05 M* Larutkan 7,1 g natrium fosfat dibasa anhidrat dalam 1000 ml air, atur pH hingga 6,25 dengan penambahan asam fosfat P.

*Larutan A* Buat campuran *Larutan dapar fosfat 0,05 M* dan metanol P (86:14). Saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil, dan awaudarakan sebelum digunakan.

*Larutan B* Buat campuran *Larutan dapar fosfat 0,05 M* dan metanol P (60:40). Saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil dan awaudarakan sebelum digunakan.

*Fase gerak* Buat variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B*. Lakukan seperti tertera pada *Sistem kromatografi*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah lebih kurang 40 mg *Natrium Sefotaksim BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 40 ml *Larutan A*, aduk hingga larut, tambahkan *Larutan A* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini segera. Larutan masih dapat digunakan dalam waktu 24 jam bila disimpan dalam lemari pendingin.]

*Larutan sensitivitas* Masukkan 2,0 ml *Larutan baku* dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. Pipet 2 ml larutan ini masukkan ke dalam labu tentukur 20-ml encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Campur 1 ml *Larutan baku*, 7 ml air dan 2 ml metanol P. Tambahkan 25 mg natrium karbonat, campur dan biarkan pada suhu ruang selama 10 menit, sambil kadang-kadang digoyang. Tambahkan 3 tetes asam asetat glasial P dan 1 ml *Larutan baku*, dan campur.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 40 mg natrium sefotaksim, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan *Larutan A* hingga larut, encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini segera. Larutan masih dapat digunakan dalam waktu 24 jam bila disimpan dalam lemari pendingin.]

*Sistem Kromatografi*. Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 235 nm dan kolom 15 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 30° dengan laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Sistem diseimbangkan dengan 100% *Larutan A*. Setelah 7 menit, *Larutan B* ditingkatkan secara linier dari 0% hingga 20%, dengan laju 10% per menit dan pertahankan komposisi tersebut selama 7 menit. *Larutan B* kemudian dinaikkan secara linier dengan laju 2,7% per menit hingga *Larutan B* 100% dan biarkan komposisi tersebut selama 5 menit, kemudian *Larutan A* dinaikkan secara linier hingga 100% dengan laju 20% per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi desasetil sefotaksim lebih kurang 3,5 menit dan sefotaksim 14 menit, dan resolusi, R, antara dua puncak tidak kurang dari 20. Lakukan kromatografi *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi untuk puncak sefotaksim antara 12 dan 15 menit, faktor ikutan tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%. Lakukan kromatografi *Larutan sensitivitas* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: respons puncak sefotaksim antara 0,18% dan 0,22% dari respons puncak sefotaksim pada kromatogram *Larutan baku*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama yang dihasilkan. Hitung jumlah dalam µg per mg sefotaksim,

$C_{16}H_{17}N_5NaO_7S_2$ , dengan rumus:

$$50 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Natrium Sefotaksim BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*, *P* adalah kandungan dalam  $\mu\text{g}$  per mg sefotaksim ( $C_{16}H_{17}N_5NaO_7S_2$ ) dalam *Natrium Sefotaksim BPFi*; *W* adalah bobot dalam mg natrium sefotaksim dalam *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat

### INJEKSI SEFOTAKSIM Cefotaxime Injection

Injeksi Sefotaksim adalah larutan steril sefotaksim natrium dalam *Air untuk Injeksi*, mengandung satu atau lebih larutan dapar yang cocok dan dapat mengandung dekstrosa atau natrium klorida sebagai pengatur tonisitas. Injeksi Sefotaksim mengandung Sefotaksim,  $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefotaksim Natrium BPFi*; tidak boleh dikeringkan; pada saat akan digunakan, tetapkan kadar air secara titrimetri untuk analisis kuantitatif, simpan dalam wadah tertutup rapat dan di lemari pendingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,20 unit Endotoksin FI per mg sefotaksim.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 7,5.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Kemurnian kromatografi** Gunakan kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh dari *Penetapan kadar*, hitung persentase masing-masing cemaran dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_{is} + r_c} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak cemaran,  $r_{is}$  adalah jumlah respons puncak seluruh cemaran dan  $r_c$  adalah respons puncak utama sefotaksim [Catatan Abaikan puncak cemaran yang kurang dari 0,1%.] Tidak ada satupun puncak cemaran yang lebih besar dari 6,0% dan jumlah seluruh cemaran tidak lebih dari 10,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan dapar fosfat 0,05 M*, *Larutan A*, *Larutan B*, *Fase gerak*, *Larutan baku*, *Larutan resolusi* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti pada *Penetapan kadar* dalam *Sefotaksim Natrium*.

*Larutan uji* Biarkan satu wadah *Injeksi* hingga mencair dan campur. Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 80 mg sefotaksim, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan prosedur seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefotaksim Natrium*. Hitung jumlah dalam mg sefotaksim,  $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$ , per ml injeksi yang digunakan dengan rumus :

$$0,1 \left( \frac{CP}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*V* adalah volume injeksi dalam ml yang digunakan pada *Larutan uji*; *P* adalah kandungan sefotaksim dalam  $\mu\text{g}$  per mg *Sefotaksim Natrium BPFi*; *C* adalah kadar *Sefotaksim Natrium BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal, seperti tertera pada *Injeksi*. Pertahankan dalam kondisi beku.

### SEFOTAKSIM UNTUK INJEKSI Cefotaxime for Injection

Sefotaksim untuk Injeksi mengandung Sefotaksim Natrium setara dengan Sefotaksim,  $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefotaksim Natrium BPFi*; *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Pada waktu digunakan, memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Identifikasi** Jika pada etiket dinyatakan bahwa tidak ada bahan tambahan:

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida *P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sefotaksim Natrium BPF1*.

B. Menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

Jika pada etiket dinyatakan bahwa ada bahan tambahan:

C. Menunjukkan reaksi uji *B* seperti tertera pada *Identifikasi* dalam *Sefotaksim Natrium*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,20 unit endotoksin FI per mg sefotaksim.

**Permeabilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Permeabilitas*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat. *Prosedur keseragaman kandungan* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* menggunakan *Larutan uji 2*, *Larutan uji 3* atau *Larutan uji 4* yang sesuai.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 6,0% dan total cemaran tidak lebih dari 0,0%. Lakukan penetapan menggunakan kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh dari *Penetapan kadar*. Hitung persentase masing-masing cemaran dengan rumus:

$$100 \frac{r_i}{r_s}$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran;  $r_s$  adalah jumlah semua respons puncak. [Catatan Abaikan puncak cemaran yang lebih kecil dari 0,1%.]

**Syarat lain** Memenuhi syarat *pH* dan *Susut pengeringan* seperti tertera pada *Sefotaksim Natrium* dan memenuhi syarat *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan dapar fosfat 0,05M*, *Larutan A*, *Larutan B*, *Pase gerak*, *Larutan baku*, *Larutan resolusi* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefotaksim Natrium*.

*Larutan uji 1* (digunakan jika ditetapkan uji keseragaman bobot) Timbang saksama lebih kurang 40 mg

sefotaksim untuk injeksi, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan lebih kurang 40 ml *Larutan A*, aduk sampai larut dan encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. [Catatan Gunakan larutan ini segera. *Larutan dapat digunakan dalam waktu 24 jam, jika disimpan dalam lemari pendingin.*]

*Larutan uji 2* (untuk kemasan botol infus dan vial). Konstitusikan satu wadah sefotaksim untuk injeksi dengan sejumlah volume minimum pelarut seperti tertera pada etiket. Balikkan wadah dan ke luar seluruh isi menggunakan alat suntik dengan jarum hipodermik. Masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. [Catatan Jangan bilas alat suntik atau wadah.] Pipet sejumlah volume larutan dan encerkan secara kuantitatif dengan *Larutan A* hingga kadar sefotaksim lebih kurang 0,8 mg per ml. [Catatan Gunakan larutan ini segera. *Larutan dapat digunakan dalam waktu 24 jam, jika disimpan dalam lemari pendingin.*]

*Larutan uji 3* (kemasan botol infus "piggyback"). Konstitusikan satu wadah sefotaksim untuk injeksi dengan sejumlah volume minimum pelarut seperti tertera pada etiket. Lakukan seperti tertera pada *Larutan uji 2*, mulai dari "Balikkan wadah".

*Larutan uji 4* (produk ruahan, bila pada etiket dinyatakan jumlah sefotaksim dalam sejumlah volume larutan terkonstitusi). Konstitusikan satu wadah sefotaksim untuk injeksi dengan sejumlah volume pelarut seperti tertera pada etiket. Ke luar dengan saksama sejumlah volume larutan setara dengan lebih kurang 1000 mg sefotaksim, menggunakan alat suntik dengan jarum hipodermik, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda. [Catatan Jangan bilas alat suntik atau wadah.] Pipet sejumlah volume larutan dan encerkan secara kuantitatif dengan *Larutan A* hingga kadar sefotaksim lebih kurang 0,8 mg per ml. [Catatan Gunakan larutan segera. *Larutan dapat digunakan dalam waktu 24 jam, jika disimpan dalam lemari pendingin.*]

*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Penetapan kadar* pada *Sefotaksim Natrium*. Hitung jumlah dalam  $\mu\text{g}$  sefotaksim,  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$ , dalam tiap mg sefotaksim untuk injeksi dengan rumus:

$$50 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Sefotaksim Natrium BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $P$  adalah kemurnian sefotaksim, dalam  $\mu\text{g}$  per mg *Sefotaksim Natrium BPF1*;  $W$  adalah bobot dalam mg sefotaksim untuk injeksi yang digunakan;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sefotaksim dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

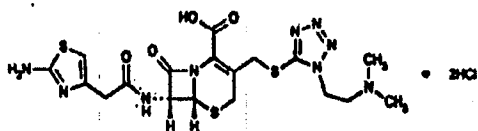
Hitung jumlah dalam mg sefotaksim,  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$ , dalam wadah dan larutan terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$CP \left( \frac{L}{1000 D} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*L* adalah jumlah sefotaksim yang tertera pada etiket dalam wadah atau dalam sejumlah volume larutan terkonstitusi yang digunakan dalam mg; *D* adalah kadar sefotaksim dalam mg per ml *Larutan uji 2*, *Larutan uji 3* atau *Larutan uji 4* sesuai jumlah yang tertera pada etiket wadah atau dalam sejumlah volume larutan terkonstitusi yang digunakan dan pengenceran selanjutnya dan simbol lainnya seperti tertera pada *Sefotaksim Natrium*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah Padatan Steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

### SEFOTIAM HIDROKLORIDA Cefotiam Hydrochloride



Asam 7(R)-[2-(2-amino-4-thiazoli)acetamido]-3-[[[1-[2-dimetilamino)etil]-1H-tetrazol-5-il]thio]metil]-3-cefem-4-karboksilat dihidroklorida [66309-69-1]  
C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>·2HCl BM 598,56

Sefotiam Hidroklorida mengandung setara dengan tidak kurang dari 790 µg dan tidak lebih dari 925 µg per mg sefotiam, C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Hablur putih sampai kuning muda.

**Kelarutan** Larut dalam metanol, sedikit larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Sefotiam Hidroklorida BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Untuk penggunaan kuantitatif, tetapkan kadar air secara titrimetri sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan lembab, simpan pada suhu tidak lebih dari 5°. Buat larutan segera sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20 µg per ml dalam air menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sefotiam Hidroklorida BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**Pirogen** <231> Memenuhi syarat, Jika pada etiket tertera steril atau dimaksudkan untuk diproses lebih lanjut selama penyiapan bentuk larutan injeksi. Lakukan penetapan menggunakan dosis uji 1,0 ml per kg yang mengandung 40 mg per ml sefotiam, C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub> dalam larutan sodium karbonat bebas pirogen (dibuat dengan melarutkan 25,6 g sodium karbonat dalam 1000 ml *Air untuk injeksi* yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 170° selama tidak kurang dari 4 jam).

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat. Bila pada etiket tertera steril. Lakukan penetapan menggunakan metode *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji sterilitas* dari produk yang diuji.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 7,0%, Lakukan penyiapan *Larutan uji* seperti zat yang higroskopik, kecuali bila menggunakan campuran 20 ml *formamida P-metanol P* (2:1) (*formamida* sebelumnya sudah dikeringkan di atas *natrium sulfat anhidrat P* selama 24 jam), sebagai pengganti metanol untuk melarutkan zat, dan untuk menetapkan kadar air dalam campuran *formamida* dan metanol.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Larutkan 13,1 g *ammonium sulfat P* dalam 850 ml air, atur pH hingga 6,5±0,1 menggunakan *ammonium hidroksida 2 N*, tambahkan 150 ml *asetonitril P*. Saring menggunakan penyaring yang sesuai dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil, dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefotiam Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam air, dan encerkan secara kuantitatif hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 1000 µg per ml. Masukkan 5,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Larutan ini mengandung setara dengan lebih kurang 50 µg per ml sefotiam (C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>). Lakukan pengujian segera setelah *Larutan baku* dibuat.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 60 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan air sampai tanda. Pindahkan 5,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Lakukan pengujian segera setelah *Larutan uji* dibuat.

*Larutan kesesuaian sistem* Buat larutan *Sefotiam Hidroklorida BPFi* dalam air hingga mengandung lebih kurang 1 mg per ml. Panaskan larutan pada suhu 95° selama 3 menit, dan dinginkan. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931> Kromatograf cair kinerja tinggi

ilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 0,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*, efisiensi kolom yang ditetapkan dari puncak sefotiam tidak lebih dari 985 lempeng teoritis bila dihitung menggunakan rumus:

$$5,545 \left( \frac{t_r}{W_{h/2}} \right)^2$$

Faktor ikutan untuk sefotiam tidak lebih dari 1,8, dan simpangan baku relatif untuk penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif masing-masing lebih kurang 0,6 dan 1,0 de-tetrazol-sefotiam dan sefotiam; dan resolusi, *R*, antara puncak de-tetrazol-sefotiam dan puncak sefotiam tidak kurang dari 4,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg sefotiam, (C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>), dalam tiap mg zat dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefotiam* dalam µg per ml *Larutan baku* berdasarkan jumlah *Sefotiam Hidroklorida BPHI* yang ditimbang dalam pembuatan *Larutan baku*, dan faktor pengenceran; *W* adalah bobot dalam mg sefotiam hidroklorida yang ditimbang untuk pembuatan *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penandaan** Jika dimaksudkan untuk penggunaan bentuk sediaan injeksi, pada etiket harus dicantumkan steril atau dimaksudkan untuk penyediaan sediaan injeksi.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## SEFOTIAM UNTUK INJEKSI

### Cefotiam for Injection

Sefotiam untuk Injeksi mengandung sejumlah Sefotiam Hidroklorida, C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>.2HCl, yang setara dengan Sefotiam, C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung sodium karbonat.

**Baku pembanding** *Sefotiam Hidroklorida BPHI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Untuk penggunaan kuantitatif, tetapkan kadar air secara titrimetri sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan lembab, simpan

pada suhu tidak lebih dari 5°. Buat larutan segera sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20 µg per ml dalam air menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sefotiam Hidroklorida BPHI*.

B. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Pirogen** <231> Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan dosis uji 1,0 ml per kg yang mengandung 40 mg per ml sefotiam dalam *Air untuk injeksi*.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat, lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**pH** <1071> Antara 5,7-7,2; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung setara dengan sefotiam 100 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 6,0%, timbang saksama lebih kurang 100 mg, keringkan pada suhu 60° selama 3 jam dalam keadaan hampa udara dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi Volume Kecil*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku, Kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefotiam Hidroklorida*.

*Larutan uji 1* (Jika dimaksudkan untuk wadah sekali pakai). Tambahkan sejumlah air yang telah diukur saksama sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Ambil seluruh isi larutan menggunakan jarum suntik yang sesuai, encerkan dengan air secara kuantitatif hingga diperoleh larutan yang mengandung setara dengan 1 mg sefotiam per ml. Pindahkan 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Larutan ini mengandung setara dengan lebih kurang 50 µg sefotiam per ml. Lakukan pengujian segera setelah larutan uji disiapkan.

*Larutan uji 2* (Jika pada etiket dinyatakan jumlah sefotiam dalam sejumlah tertentu volume larutan terkonstitusi). Konstitusikan isi wadah injeksi dalam sejumlah volume air yang diukur saksama setara dengan volume pengencer yang tertera pada etiket. Ukur saksama volume larutan terkonstitusi. Encerkan dengan air secara kuantitatif hingga diperoleh larutan yang mengandung setara dengan lebih kurang 1 mg sefotiam per ml. Pindahkan 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

Larutan ini mengandung setara dengan lebih kurang 50 µg per ml sefotiam. Lakukan pengujian segera setelah larutan uji disiapkan.

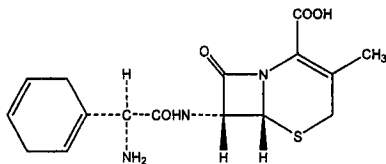
*Prosedur* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefotiam Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg sefotiam, (C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>), yang diambil dari wadah, atau bagian larutan terkonstitusi yang diambil, dengan rumus :

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar sefotiam dalam µg per ml *Larutan baku* berdasarkan jumlah *Sefotiam BPFi* yang ditimbang dalam pembuatan *Larutan baku*, dan faktor pengenceran; *L* adalah jumlah dalam mg sefotiam dalam wadah seperti tertera pada etiket atau volume larutan terkonstitusi yang diambil; *D* adalah kadar dalam µg sefotiam per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket wadah atau volume larutan terkonstitusi yang diambil dan faktor pengenceran; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut turut adalah respons puncak sefotiam dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah untuk sediaan padat steril seperti tertera pada *Injeksi*.

**SEFRADIN**  
**Cephadrine**



*Asam (6R,7R)-7-[(R)-2-amino-2-(1,4-sikloheksadien-1-il)asetamido]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo [4,2,0]okt-2-ena-2-karboksilat [38821-53-3 (anhidrat)]*

C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S BM 349,41

Monohidrat [31828-50-9]

hidrat non-stokiometrik BM 367,43

Dihidrat [58456-46-3] BM 385,44

Sefradin mempunyai potensi tidak kurang dari 900 µg dan tidak lebih dari 1050 µg per mg terhadap total sefalosporin (campuran sefradin, C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S dan sefaleksin C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S) dihitung terhadap zat anhidratnya.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; sangat sukar larut dalam etanol dan dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Sefradin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Bentuk dihidrat dari

sefradin. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Sefaleksin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Bentuk monohidrat dari sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan di tempat sejuk. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi Spektrum** serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sefradin BPFi*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**Keamanan** Memenuhi syarat untuk antibiotik; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi in-vivo* <251>, melalui oral, menggunakan 0,5 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan sejumlah zat yang ditimbang saksama dalam larutan metilseulosa P (4000 cps) (1 dalam 100) hingga diperoleh kadar sefradin 40 mg per ml.

**pH** <1071> Antara 3,5 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 10 mg zat per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 6,0%, kecuali jika bentuk dihidrat, antara 8,5% dan 10,5%.

**Batas Sefaleksin** Tidak lebih dari 5,0%, dihitung sebagai anhidrat; Menggunakan kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*, hitung persentase, sefaleksin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S dalam sefradin, dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_{Ux}}{r_U} \right)$$

*r<sub>Ux</sub>* adalah respons puncak sefaleksin pada kromatogram *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* adalah jumlah respons puncak sefaleksin dan sefradin pada kromatogram *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran air-metanol P-natrium asetat 0,5 M-asam asetat 0,7 N (782:200:15:3). Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>, saring larutan melalui penyaring membran dengan porositas 1 µm atau lebih kecil dan awaudarkan sebelum digunakan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefradin BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan resolusi* Buat larutan dalam *Fase gerak* yang dalam tiap ml mengandung lebih kurang 0,5 mg *Sefradin BPF*I dan 0,5 mg *Sefaleksin BPF*I.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 30 ml *Fase gerak* dan sonikasi. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif sefaleksin dan sefradin masing-masing adalah lebih kurang 0,8 dan 1,0 dan resolusi, *R*, antara puncak sefaleksin dan sefradin tidak kurang dari 2,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg, total sefalosporin (jumlah sefaleksin dan sefradin) dalam tiap mg sefradin yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{CP}{M} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefradin BPF*I dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Sefradin BPF*I dalam µg per mg; *M* adalah jumlah dalam mg sefradin yang digunakan pada *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah jumlah respons puncak sefradin dan sefaleksin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## KAPSUL SEFRADIN Cephadrine Capsule

Kapsul Sefradin mengandung Sefradin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang pada etiket dihitung sebagai jumlah sefradin, C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S dan sefaleksin, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

**Baku pembanding** *Sefradin BPF*I; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Bentuk dihidrat dari sefradin. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Sefaleksin BPF*I; Bentuk monohidrat dari sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan di tempat sejuk.

## Identifikasi

*Larutan uji* Campur isi 1 kapsul dengan air hingga kadar sefradin lebih kurang 3 mg per ml, saring. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>. Masukkan lempeng kromatografi yang sesuai dengan lapisan *silika gel P* tanpa bahan pengikat, ke dalam bejana kromatografi berisi campuran *n-heksan P-tetradekana P* (95:5) dengan ke dalaman lebih kurang 1 cm. Biarkan merambat sampai tepi atas lempeng, angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap. Pada lempeng ini totolkan masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* yang mengandung 3 mg *Sefradin BPF*I per ml. Biarkan bercak mengering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi campuran *asam sitrat 0,1 M - natrium fosfat dibasa 0,1 M* dan larutan *ninhidrin P* dalam *aseton P* (1 dalam 15), (60:40:1,5), sampai merambat setinggi tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, keringkan pada suhu 110 selama 10 menit; harga *R<sub>f</sub>* bercak utama pada kromatografi *Larutan uji* sama dengan *Larutan baku*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 7,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg campuran isi dari 4 kapsul.

## Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml *asam klorida 0,12 N*.

*Alat tipe 1*: 100 rpm

*Waktu*: 45 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah sefradin C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, kemudian bandingkan dengan serapan *Larutan baku Sefradin BPF*I yang diketahui kadarnya pada media yang sama, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 255 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefradin*.

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luaran isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 125 mg sefradin, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan 50 ml *Fase gerak*, sonikasi selama lebih kurang 15 menit dan kocok secara mekanik selama lebih

kurang 10 menit, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Saring larutan melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil, buang 5 ml filtrat pertama. Gunakan filtrat sebagai *Larutan uji*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak sefradin. Hitung jumlah dalam mg sefradin (jumlah sefradin dan sefaleksin) dalam kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$0,25(CP) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefradin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Sefradin BPFi* dalam µg per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah jumlah respons puncak sefradin dan sefaleksin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### TABLET SEFRADIN Cephadrine Tablet

Tablet Sefradin mengandung Sefradin,  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ , dan Sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket dihitung terhadap jumlah sefradin,  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$  dan sefaleksin,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ .

**Baku Pembanding.** *Sefradin BPFi* tidak boleh di keringkan sebelum digunakan. Bentuk dihidrat dari sefradin. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Sefaleksin BPFi* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Bentuk monohidrat dari sefaleksin. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan di tempat sejuk.

**Identifikasi.** Campur sejumlah serbuk tablet dengan air hingga kadar sefradin lebih kurang 3 mg per ml dan saring (*Larutan uji*). Lakukan seperti tertera pada *Identifikasi* dalam *Kapsul Sefradin* mulai dengan "Masukkan lempeng kromatografi yang sesuai": Harga *Rf* bercak utama pada kromatogram larutan uji sama dengan *Larutan baku*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi:* 900 ml asam hidroklorida 0,12 N.

*Alat tipe 2:* 75 rpm.

*Waktu:* 60 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah sefradin,  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ , yang terlarut dengan mengukur alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* kemudian bandingkan dengan serapan larutan baku *Sefradin BPFi* yang diketahui kadarnya dalam media yang sama pada

panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 255 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 85% (Q)  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman Sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031>Metode 1** Tidak lebih dari 6,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefradin*.

*Larutan uji* Masukkan tidak kurang dari 5 tablet ke dalam blender kaca kecepatan tinggi yang berisi sejumlah volume air yang diukur saksama, hingga kadar tidak kurang dari 5 mg per ml, dan diblender selama 4±1 menit. Encerkan sejumlah volume *Larutan uji* secara kuantitatif dan bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar sefradin lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam kromatografi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sefradin (jumlah sefradin dan sefaleksin) dalam zat uji dengan rumus:

$$(CP) \left( \frac{L}{1000D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefradin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi dalam µg per mg *Sefradin BPFi*; *L* adalah jumlah sefradin sesuai etiket dalam mg per tablet; *D* adalah kadar sefradin dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah jumlah respons puncak sefradin dan sefaleksin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SEFRADIN UNTUK INJEKSI Cephadrinum for Injection

Sefradin untuk Injeksi mengandung Sefradin  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket dihitung sebagai jumlah sefradin dan sefaleksin.

**Baku Pembanding** *Sefradin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Bentuk dihidrat dan sefradin. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya dan di tempat dingin. *Sefaleksin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Bentuk monohidrat dan sefaleksin. Simpan dalam wadah



tertutup rapat dan di tempat sejuk. *Endotoksin BPF1; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.]* Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Pada saat akan digunakan: memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Identifikasi** Encerkan isi dari satu wadah sefradin untuk injeksi dengan air hingga diperoleh larutan uji yang mengandung 3 mg sefradin per ml. Lakukan seperti tertera pada *Identifikasi* dalam *Kapsul Sefradin* mulai dengan "Masukkan lempeng kromatografi yang sesuai": harga  $R_f$  bercak utama pada kromatogram *Larutan uji* sama dengan *Larutan baku*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,20 unit Endotoksin FI per mg sefradin.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**pH** <1071> Antara 8,0 dan 9,6; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 10 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 5,0%; Lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler dengan tekanan tidak lebih dari 5mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan 100 mg zat yang ditimbang saksama.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Keseragaman Sediaan* <911> dan *Penandaan* dalam *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada kromatografi <931>.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Buat seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sefradin*.

*Larutan uji 1* (Menggunakan wadah dosis tunggal). Konstitusikan zat dalam air yang diukur saksama sesuai jumlah pelarut seperti tertera pada etiket. Ke luar semua isi yang dapat dikeluarkan menggunakan jarum suntik hipodermik yang sesuai, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml sefradin.

*Larutan uji 2* (Pada etiket dinyatakan jumlah sefradin dalam sejumlah volume larutan konstitusi). Konstitusikan sefradin untuk injeksi dalam sejumlah air yang diukur saksama, sesuai jumlah pelarut yang tertera pada etiket. Encerkan sejumlah volume larutan konstitusi yang diukur saksama dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5mg per ml sefradin.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sefradin (jumlah sefradin dan sefaleksin) yang dikeluarkan dari wadah atau dalam larutan konstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$(CP) \left( \frac{L}{1000D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefradin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi dalam  $\mu$ g per mg *Sefradin BPF1*; *L* adalah jumlah sefradin sesuai etiket dalam mg per wadah yang digunakan untuk penyiapan *Larutan uji 1* atau dalam volume larutan konstitusi yang digunakan untuk penyiapan *Larutan uji 2*; *D* adalah kadar sefradin dalam mg per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* dihitung berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket wadah atau dalam larutan konstitusi yang digunakan, dan tingkat pengenceran;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah jumlah respons puncak sefradin dan sefaleksin *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam *Wadah untuk padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

## SEFRADIN UNTUK SUSPENSI ORAL Cephadrine for Oral Suspension

Sefradin untuk Suspensi Oral adalah campuran kering Sefradin dan satu atau lebih dapar, zat warna, pengencer dan perisa yang sesuai. Mengandung Sefradin,  $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 125,% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefradin BPF1*; tidak boleh di keringkan sebelum dikeringkan.

**Identifikasi** Konstitusikan 1 wadah Sefradin untuk Suspensi Oral seperti tertera pada etiket. Campur sejumlah suspensi yang diperoleh dengan air hingga kadar sefradin lebih kurang 3 mg per ml, saring (*Larutan uji*). Lakukan seperti tertera pada identifikasi dalam kapsul sefradin, mulai dengan "masuk ke lempeng kromatografi": harga  $R_f$  bercak utama pada kromatogram *larutan uji*, sama dengan *larutan baku*.

**pH** <1071> antara 3,5 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan suspensi yang dikonstitusikan seperti tertera pada etiket.

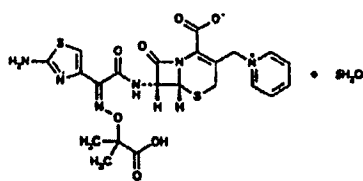
**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,5%.

**Penetapan potensi** Konstitusikan Sefradin untuk Suspensi Oral seperti tertera pada etiket. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan Potensi*

*Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>, menggunakan sejumlah volume suspensi yang diukur saksama, diencerkan dengan *Dapar nomor 1* hingga diperoleh *Larutan uji* dengan kadar yang diperkirakan sama dengan aras dosis tengah baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## SEFTAZIDIM Ceftazidime



1-[[[(6R,7R)-7-[2-(2-Amino-4-tiazolil)glioksil amido]-2-karboksi-8-okso-5-tia-1-azabisiklo [4.2.0]okt-2-en-3-il]metil]piridium hidroksida, garam sendiri, 7<sup>2</sup>-(Z)-[O(1-karboksi-1-metiletil) oksim], pentahidrat[78439-06-2]

C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>·5 H<sub>2</sub>O  
Anhidrat

BM 636,65  
BM 546,59

Seftazidim mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga krim.

**Kelarutan** Larut dalam alkali dan dimetil sulfoksida; sedikit larut dalam dimetil formamida, dalam metanol dan air; tidak larut dalam aseton, dalam etanol, dalam kloroform, dalam dioksan, dalam eter, dalam etil asetat dan dalam toluen.

**Baku pembanding** *Seftazidim Pentahidrat BPF1*, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, udara, dan kelembaban, simpan dalam lemari pembeku. *Isomer Delta-3-Seftazidim BPF1*, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan dalam lemari pembeku. *Endotoksin BPF1*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**Sterilitas** <71> Bila pada etiket dinyatakan steril, memenuhi syarat, lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas*

dari produk yang diuji, kecuali bila menggunakan *Cairan A* yang untuk setiap 1000 ml yang telah ditambahkan 10 g natrium bikarbonat sebelum disterilkan.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 4,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 5 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari antara 13,0% dan 15,0%; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan 300 mg zat.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan steril atau dilakukan proses lebih lanjut selama penyiapan bentuk sediaan injeksi atau bentuk sediaan steril lain, memenuhi syarat *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Seftazidim untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 7* Larutkan 42,59 g *natrium fosfat dibasa anhidrat P* dan 27,22 g *kalium fosfat monobasa P* dalam air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Campur 40 ml *asetonitril P* dan 200 ml *Dapar pH 7*, encerkan dengan air hingga 2000 ml. Saring melalui penyaring dengan porositas 1 µm atau lebih kecil dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah lebih kurang 29 mg *Seftazidim Pentahidrat BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 2,5 ml *Dapar pH 7* dan kocok sampai larut. Encerkan dengan air sampai tanda. [Catatan Lindungi larutan dari cahaya.] Segera sebelum dilakukan kromatografi, masukkan 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung seftazidim lebih kurang 100 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah lebih kurang 115 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 10,0 ml *Dapar pH 7*, kocok sampai larut. Encerkan dengan air sampai tanda. [Catatan Lindungi larutan dari cahaya.] Segera sebelum dilakukan kromatografi, masukkan 5,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan resolusi* Buat larutan *Isomer Delta-3-Seftazidim BPF1* lebih kurang 0,1 mg per ml dalam *Dapar pH 7*. Lakukan kromatografi segera setelah mencampur 1 ml larutan ini dengan 8 ml air dan 1 ml larutan induk yang digunakan untuk membuat *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera

pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak seftazidim dan puncak isomer delta-3-seftazidim tidak kurang dari 2,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak analit tidak kurang dari 0,75 dan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah masing-masing sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ , dengan rumus:

$$C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar seftazidim dalam µg per ml. *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### INJEKSI SEFTAZIDIM Ceftazidime Injection

Injeksi Seftazidim adalah larutan isoosmotik steril Seftazidim dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung satu atau lebih larutan dapar yang sesuai dan bahan pengatur tonisitas. Injeksi Seftazidim mengandung Seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Seftazidim Pentahidrat BPF1*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, udara dan kelembaban, dalam lemari pembeku. *Isomer Delta-3-Seftazidim BPF1*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pembeku.

**Identifikasi Waktu retensi puncak utama** *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Pirogen** <231> Memenuhi syarat, lakukan penetapan menggunakan injeksi tanpa pengenceran dengan dosis uji 80 mg per kg bobot kelinci.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**pH** <1071> Antara 5,0 dan 7,5.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 7, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Seftazidim*.

*Larutan uji* Biarkan satu wadah Injeksi hingga mencair dan campur. Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 50 mg seftazidim, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Dapar pH 7* sampai tanda. Masukkan 5,0 ml larutan ini pada labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air hingga tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti *Prosedur* yang tertera pada *Penetapan kadar dalam Seftazidim*. Hitung jumlah dalam mg seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ , per ml injeksi dengan rumus:

$$0,5 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar seftazidim dalam µg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume injeksi yang digunakan dalam ml,  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah untuk injeksi* seperti tertera pada *Injeksi*. Simpan dalam kondisi beku.

### SEFTAZIDIM UNTUK INJEKSI Ceftazidime for Injection

Seftazidim untuk Injeksi adalah campuran steril Seftazidim steril dan Natrium karbonat atau Arginin. Mengandung Seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$  tidak kurang dari 90,0 % dan tidak lebih dari 105,0%, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan dan natrium karbonat bebas basa atau arginin bebas basa, dan mengandung Seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *L-Arginin BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat; *Delta-3-Isomer Seftazidim BPF1*, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya, dalam lemari pembeku; *Seftazidim Pentahidrat BPF1*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, udara dan kelembaban, dalam lemari pembeku; *Endotoksin BPF1* [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Larut dalam *asam klorida 1 N*, membentuk gas tidak berwarna yang bila dilewatkan ke dalam *kalsium hidroksida LP* akan segera terbentuk endapan putih.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,1 unit Endotoksin FI per mg seftazidim.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur menggunakan Penyaringan membran dalam Uji sterilitas*.

**pH <1071>** Antara 5,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 100 mg seftazidim per ml dalam wadah tertutup rapat, tetapi tidak mengurangi tekanan dalam wadah ketika mengisiskan larutan.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 12,5%; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 25° selama 4 jam menggunakan 300 mg zat. Jika mengandung arginin penyusutan tidak lebih dari 12,5%. Jika mengandung natrium karbonat penyusutan tidak lebih dari 13,5%. Jika mengandung arginin gunakan persentase penyusutan, *m*, untuk menghitung zat yang telah dikeringkan dan arginin bebas basa, hasil *Larutan uji 1* seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Jika mengandung natrium karbonat, panaskan residu dalam hampa udara pada suhu 100° dan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg selama 3 jam dan hitung persentase total penyusutan bobot. Gunakan persentase penyusutan, *m*, untuk menghitung zat yang telah dikeringkan dan basa bebas natrium karbonat, hasil *Penetapan kadar I* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat untuk *Injeksi volume kecil*.

### Natrium karbonat (jika ada)

*Larutan kalium klorida* Larutkan 19,07 g *kalium klorida P* dalam air hingga 1000 ml larutan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *natrium klorida P* yang telah dikeringkan pada 105° selama 2 jam dan larutkan dalam air hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 14 µg per ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10,0 ml *Larutan kalium klorida*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Gunakan *Larutan uji 1* seperti tertera pada *Penetapan kadar*, jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga kadar natrium karbonat lebih kurang 12,5 µg per ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml *Larutan kalium klorida*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan blangko* Pipet 10 ml *Larutan kalium klorida* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada garis emisi natrium 589 nm dengan spektrofotometer serapan atom seperti tertera pada *Spektrofotometri dan hamburan cahaya <1191>* dilengkapi dengan lampu "hollow" katoda dan pembakar asetilen *P*-udara, gunakan *Larutan blangko* sebagai blangko. Hitung persentase natrium karbonat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dalam bagian injeksi dengan rumus:

$$\left( \frac{105,99}{116,88} \right) \left( \frac{0,1C}{M} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

105,99 adalah bobot molekul natrium karbonat; 116,88 adalah dua kali bobot molekul natrium klorida; *C* adalah kadar natrium klorida dalam µg per ml *Larutan baku*; *M* adalah kadar *Sefiazidim BPFI* untuk injeksi dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan bobot mg seftazidim untuk injeksi yang digunakan dan tingkat pengenceran; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Gunakan persentase ini untuk penghitungan zat yang telah dikeringkan dan natrium karbonat bebas basa, seperti tertera pada *Larutan uji 1* dalam *Penetapan kadar*.

**Piridin** Tidak lebih dari 0,4% piridin yang diperoleh dari seftazidim yang mengandung natrium karbonat dan tidak lebih dari 0,3% seftazidim yang mengandung arginin. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran 300 ml *asetonitril P* dan 100 ml *amonium fosfat monobasa 0,25 M*, encerkan dengan air hingga 1000 ml dan atur pH hingga 7,0±0,1 dengan penambahan *amonium hidroksida P*. Saring larutan melalui penyaring membran dengan porositas 1 µm atau lebih kecil dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 7* Timbang 5,68 g *natrium fosfat dibasa P* dan 3,63 g *kalium fosfat monobasa P* dalam air hingga 1000 ml.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 250 mg *piridin P*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Segera sebelum penetapan pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Dapar pH 7* sampai tanda. Larutan ini mengandung piridin lebih kurang 25 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 660 mg seftazidim untuk injeksi yang baru dikeluarkan dari wadahnya, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *Dapar pH 7* sampai tanda. Simpan larutan ini di tempat dingin dan gunakan dalam waktu 1 jam.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel

5 µm. Laju alir lebih kurang 1,6 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak piridin. Hitung persentase piridin dalam zat dengan rumus :

$$10 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar piridin dalam µg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot seftazidim untuk injeksi yang digunakan dalam mg; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak piridin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Arginin (jika ada)** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Larutkan 1,15 g amonium fosfat monobasa *P* dalam lebih kurang 800 ml air. Atur pH hingga 2,0±0,1 dengan penambahan asam fosfat *P*, encerkan dengan air hingga 1000 ml. Buat campuran asetonitril *P*-larutan ini (750:250), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Seftazidim Pentahidrat BPF1 dan *L-Arginin BPF1* larutkan dalam air hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah seftazidim untuk injeksi, larutkan dan encerkan dengan air hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 206 nm dan prakolom saturator 50 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L27*, dan kolom analitik 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L20*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R* antara puncak seftazidim dan arginin tidak kurang dari 6,0; dan faktor ikutan untuk puncak arginin tidak lebih dari 4,0.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentasi arginin,  $C_6H_{14}N_4O_2$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_S}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C<sub>S</sub>* adalah kadar *L-Arginin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *C<sub>U</sub>* adalah kadar seftazidim untuk injeksi dalam mg per ml *Larutan uji*, berdasarkan bobot mg seftazidim untuk injeksi yang digunakan dan tingkat pengenceran; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak arginin dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Gunakan persentase ini untuk penghitungan zat yang telah dikeringkan dan arginin bebas basa, hasil penetapan dari *Larutan uji 1* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Keseragaman sediaan* <911> dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 7, Fase gerak, Larutan baku, Larutan Resolusi dan Sistem kromatografi.* Lakukan seperti tertera pada *Seftazidim*.

*Larutan uji 1* Timbang saksama sejumlah seftazidim untuk injeksi, setara dengan lebih kurang 250 mg seftazidim masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan air sampai tanda. [*Catatan Larutan terlindung cahaya.*] Segera sebelum dilakukan penetapan pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 2* (Jika dinyatakan sediaan dalam wadah dosis tunggal). Konstitusikan seftazidim untuk injeksi dengan air yang diukur saksama seperti tertera pada etiket. Ke luaran semua isi wadah menggunakan jarum suntik hipodermik, encerkan secara kuantitatif dengan air hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 1 mg seftazidim per ml. [*Catatan Larutan terlindung cahaya.*] Segera sebelum dikromatografi pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 3* (Jika pada etiket tertera jumlah seftazidim dalam volume larutan yang diberikan). Ukur saksama sejumlah volume air dan konstitusikan ke dalam wadah seftazidim untuk injeksi sesuai volume pelarut yang tertera pada etiket. Ukur saksama sejumlah volume larutan konstitusi, encerkan dengan air hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 1 mg seftazidim per ml. [*Catatan Larutan terlindung cahaya.*] Segera sebelum di kromatografi pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Penetapan kadar Seftadizim*. Hitung persentasi seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ , dalam keadaan kering dan tidak mengandung natrium karbonat atau arginin, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$25.000 \left( \frac{C}{W} (100 - m - s) \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Seftazidim BPFi*,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$  dalam mg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot dalam mg seftazidim untuk injeksi dalam *Larutan uji 1*; *m* adalah persentase jumlah susut pengeringan; *s* adalah persentase natrium karbonat atau arginin dalam seftazidim untuk injeksi yang digunakan;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak utama *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

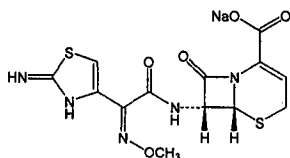
Hitung jumlah dalam mg seftazidim,  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ , yang dikeluarkan dari wadah atau dalam bagian larutan terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*L* adalah bobot dalam mg seftazidim  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$  yang tertera pada etiket wadah, atau dalam volume larutan terkonstitusi yang digunakan; *D* adalah kadar seftazidim  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$  dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan uji 2* atau *Larutan uji 3*, berturut-turut berdasarkan jumlah pada etiket wadah atau volume larutan konstitusi yang digunakan dan besar faktor pengenceran.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah untuk padatan steril seperti tertera pada *Injeksi*, dan terlindung cahaya.

## SEFTIZOKSIM NATRIUM Ceftizoxime Sodium



*Natrium (6R,7R)- 7[2-(2-imino-4-tiazolin-4-il-glioksil amido)]8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4,2,0]okt-2-ena-2-karboksilat 7²-(Z)-(O-metiloksim)* [68401-82-1]

$C_{13}H_{12}N_5NaO_5S_2$  BM 405,39

Seftizoksim Natrium mengandung Seftizoksim,  $C_{13}H_{12}N_5O_5S_2$ , setara dengan tidak kurang dari 850  $\mu\text{g}$  dan tidak lebih dari 995  $\mu\text{g}$  per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur putih sampai kuning pucat.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air.

**Baku pembanding** *Seftizoksim BPFi*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada tempat yang sejuk dan kering. *Endotoksin BPFi*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

## Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 8,0; Lakukan penetapan menggunakan larutan 1 dalam 10.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 8,5%.

**Syarat lain** Jika etiket tertera seftizoksim natrium steril, memenuhi syarat uji *Sterilitas* <71> dan *Endotoksin bakteri* <201> seperti tertera pada *Seftizoksim untuk Injeksi*. Jika etiket tertera seftizoksim natrium harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, memenuhi syarat uji *Endotoksin bakteri* <201> seperti tertera pada *Seftizoksim untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 3,6* Larutkan 1,42 g asam sitrat monohidrat P dan 1,73 g natrium fosfat dibasa P dalam air hingga 1000 ml.

*Dapar pH 7,0* Larutkan 3,63 g kalium fosfat monobasa P dan 10,73 g natrium fosfat dibasa P dalam air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar pH 3,6 - asetonitril P* (9:1). Saring melalui penyaring dengan porositas 1  $\mu\text{m}$  atau lebih kecil, dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku internal* Larutkan 1,2 g asam salisilat dalam 10 ml metanol P, dan encerkan dengan *Dapar pH 7,0* hingga 200 ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Seftizoksim BPFi*, larutkan dalam *Dapar pH 7,0* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda. Larutan ini mengandung seftizoksim lebih kurang 0,02 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat dan lakukan seperti pada *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4,0 mm yang berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5-10  $\mu\text{m}$ . Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 2,0; resolusi, *R*, antara analit dan puncak baku internal tidak kurang dari 4; waktu retensi

relatif seftizoksim dan asam salisilat berturut-turut adalah lebih kurang 0,6 dan 1,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg seftizoksim, C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, tiap mg zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{M} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Seftizoksim BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *M* adalah kadar seftizoksim natrium dalam mg per ml *Larutan uji*; dan *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak seftizoksim terhadap puncak baku internal yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### INJEKSI SEFTIZOKSIM Ceftizoxime Injection

Injeksi Seftizoksim adalah larutan steril Seftizoksim Natrium dalam pengencer mengandung satu atau lebih bahan pengatur tonisitas dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung Seftizoksim Natrium yang setara dengan Seftizoksim, C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Seftizoksim BPF1*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, udara dan kelembaban, dalam lemari pembeku. *Endotoksin BPF1*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,10 unit Endotoksin FI per mg seftizoksim.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas*.

**pH** <1071> Antara 5,5 dan 8,0.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi persyaratan untuk *Injeksi volume kecil*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 3,6*; *Dapar pH 7,0*; *Fase gerak*, *Larutan baku internal*, *Larutan baku*, dan *Sistem Kromatografi* lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Seftizoksim Natrium*.

*Larutan uji* Biarkan satu wadah injeksi mencair, dan campur. Pipet sejumlah volume injeksi yang setara dengan lebih kurang 40 mg seftizoksim, ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Seftizoksim Natrium*. Hitung jumlah dalam mg seftizoksim, C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, dalam tiap ml injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$2000 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*V* adalah volume dalam ml injeksi yang digunakan, dan notasi lain seperti tertera pada *Seftizoksim Natrium*.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah untuk injeksi seperti tertera pada *Injeksi*. Simpan dalam kondisi beku.

**Penandaan** Memenuhi persyaratan etiket seperti tertera pada *Injeksi*. Pada etiket harus dicantumkan "cairkan sesaat sebelum digunakan" dan cantumkan kondisi penyimpanan yang paling baik. Dan larutan tidak boleh dibekukan kembali.

### SEFTIZOKSIM UNTUK INJEKSI Ceftizoxime for Injection

Seftizoksim untuk Injeksi mengandung Seftizoksim Natrium setara dengan Seftizoksim, C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Seftizoksim BPF1*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat pada tempat sejuk dan kering. *Endotoksin BPF1*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Memenuhi syarat larutan terkonstitusi seperti tertera pada *Injeksi*; dibuat pada saat akan digunakan.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,10 unit Endotoksin FI per mg seftizoksिम.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas*.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi persyaratan untuk *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi uji *Identifikasi, Sifat hablur, pH dan Air* seperti tertera pada *Seftizoksिम natrium* dan memenuhi syarat *Keseragaman sediaan* <911> dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 3,6, Dapar pH 7,0, Fase gerak, Larutan baku internal, dan Sistem kromatografi* lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Seftizoksिम Natrium*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Seftizoksिम BPFi* larutkan dalam *Dapar pH 7,0* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda. Larutan ini mengandung lebih kurang 0,02 mg per ml.

*Larutan uji 1* (jika dinyatakan dalam wadah dosis tunggal). Konstitusikan *Seftizoksिम untuk Injeksi* dalam sejumlah volume air, yang diukur saksama, sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Encerkan secara kuantitatif sejumlah volume larutan yang diukur saksama dengan *Dapar pH 7,0* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda.

*Larutan uji 2* (jika dinyatakan jumlah seftizoksिम dalam volume larutan terkonstitusi). Konstitusikan *Seftizoksिम untuk Injeksi* dalam sejumlah volume air, yang diukur secara saksama, sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Encerkan secara kuantitatif sejumlah volume larutan yang diukur saksama dengan *Dapar pH 7,0* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Dapar pH 7,0* sampai tanda.

**Prosedur** Lakukan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Seftizoksिम Natrium*. Hitung jumlah dalam mg seftizoksिम,  $C_{13}H_{13}N_5O_5S_2$ , dalam larutan terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

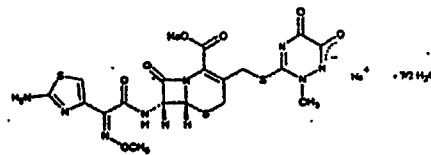
$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*L* adalah jumlah seftizoksिम dalam mg yang tertera pada etiket, atau dalam volume larutan terkonstitusi yang digunakan; *D* adalah kadar seftizoksिम dalam mg per ml

*Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2*, berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket atau volume larutan terkonstitusi yang digunakan, dan tingkat pengenceran; *C* adalah kadar *Seftizoksिम BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak seftizoksिम terhadap puncak baku internal yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah untuk bahan padat steril seperti yang tercantum pada *Injeksi*.

### SEFTRIAKSON NATRIUM Ceftriaxone Sodium



(6*R*,7*R*)-7-[2-(2-Amino-4-tiazolil)gliksil amido]-8-okso-3-[[{(1,2,5,6-tetrahidro-2-metil-5,6-iokso,astriazin-3-il) tio}-metil]-5-tia-1-azabisiklo[4,2,0]okt-2-ene-2-asam karboksilat,7<sup>2</sup>-(*Z*)-(O-metiloksima), garam dinatrium, seskuaterhidrat [104376-79-6]

$C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3\frac{1}{2} H_2O$  BM 661,60  
Anhidrat BM 598,56

Seftriakson Natrium mengandung setara dengan tidak kurang dari 795  $\mu$ g per mg seftriakson,  $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ , dihitung sebagai zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga jingga kekuningan.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam metanol; sangat sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Seftriakson Natrium BPFi* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam lemari pendingin. Setelah dibuka simpan dalam wadah tertutup rapat. *Isomer E Seftriakson Natrium BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan simpan dalam tempat dingin dan kering. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida *P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Seftriakson Natrium BPFi*.



B. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

C. Menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* < 291 >.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,20 unit Endotoksin FI per mg seftriakson.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 8,0; lakukan penetapan menggunakan larutan ( 1 dalam 10).

**Air** <1031> *Metode I* Antara 8,0% dan 11,0%.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan *Seftriakson Natrium Steril*, harus memenuhi syarat *Sterilitas dan Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Seftriakson untuk injeksi*. Bila dinyatakan pada etiket *Seftriakson Natrium* dimaksudkan untuk diproses lebih lanjut selama penyiapan bentuk sediaan injeksi, memenuhi syarat *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Seftriakson untuk injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar pH 7,0* Larutkan 13,6 g kalium fosfat dibasa *P* dan 4,0 g kalium fosfat monobasa *P* dalam air hingga 1000 ml. Atur pH dengan penambahan asam fosfat *P* atau kalium hidroksida 10 *N* hingga 7,0±0,1.

*Dapar pH 5,0* Larutkan 25,8 g natrium sitrat *P* dalam 500 ml air, atur pH dengan penambahan larutan asam sitrat *P* (1 dalam 5) hingga 5,0±0,1, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Larutkan 3,2 g tetraheptilamonium bromida *P* dalam 400 ml asetonitril *P*, tambahkan 44 ml *Dapar pH 7,0* dan 4 ml *Dapar pH 5,0*, tambahkan air hingga 1000 ml. Saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Seftriakson Natrium BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga diperoleh larutan dengan kadar 0,2 mg per ml. Gunakan larutan ini segera.

*Larutan resolusi* Larutkan sejumlah *Isomer E Seftriakson Natrium BPFi* dalam *Larutan baku*, encerkan dengan *Larutan baku* hingga diperoleh larutan dengan kadar *Isomer E Seftriakson Natrium BPFi* dan *Seftriakson Natrium BPFi* masing-masing 160 µg per ml. Gunakan larutan ini segera.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 40 mg seftriakson natrium, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Gunakan larutan ini segera.

*Sistem Kromatografi*. Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 270 nm dan kolom 15 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; resolusi, *R*, antara puncak isomer *E* seftriakson dan seftriakson tidak kurang dari 3. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; efisiensi kolom yang ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg seftriakson, (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>S<sub>3</sub>), per mg zat uji dengan rumus :

$$200 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Seftriakson Natrium BPFi* dalam mg per ml larutan baku; *P* adalah potensi *Seftriakson Natrium BPFi* dalam µg seftriakson per mg; *W* adalah jumlah dalam mg, seftriakson natrium yang digunakan dalam *Larutan uji*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## INJEKSI SEFTRIAKSON Ceftriaxone Injection

Injeksi Seftriakson adalah larutan steril seftriakson natrium dalam pengencer yang mengandung satu atau lebih pengatur tonisitas dalam *Air untuk injeksi* mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% seftriakson, C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>S<sub>3</sub> dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Seftriakson Natrium BPFi* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam lemari pendingin. Setelah dibuka simpan dalam wadah tertutup rapat. *Isomer E Seftriakson Natrium BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan simpan dalam tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama seftriakson dalam *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,2 unit Endotoksin FI per mg seftriakson.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**pH <1071>** Antara 6,0 dan 8,0.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Penetapan kadar** Lakukan Penetapan kadar dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi < 931 >*.

*Dapar pH 7,0, Dapar pH 5,0, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Seftriakson natrium*.

*Larutan uji* Biarkan satu wadah Injeksi mencair dan campur. Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 40 mg seftriakson, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Gunakan larutan ini segera.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Seftriakson Natrium*. Hitung jumlah dalam mg per ml seftriakson,  $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ , larutan injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$200 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Seftriakson Natrium BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume injeksi yang digunakan dalam ml;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah untuk Injeksi* seperti tertera pada *Injeksi*. Simpan dalam kondisi beku.

## SEFTRIAKSON UNTUK INJEKSI Ceftriaxone for Injection

Seftriakson untuk Injeksi mengandung Seftriakson Natrium setara dengan tidak kurang dari 776  $\mu$ g seftriakson,  $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$  per mg, dihitung sebagai zat anhidrat dan setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% seftriakson,  $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Seftriakson Natrium BPFi* tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam

lemari pendingin. Setelah dibuka simpan dalam wadah tertutup rapat. *Isomer E Seftriakson Natrium BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan simpan dalam tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan *Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Memenuhi syarat terkonstitusi seperti tertera pada *Injeksi*; dibuat pada saat akan digunakan dengan melarutkan *Seftriakson untuk Injeksi*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,2 unit Endotoksin FI per mg seftriakson.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi Volume Kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi uji *Identifikasi, Sifat hablur, pH dan Air* yang tertera pada *Seftriakson Natrium* dan memenuhi syarat *Keseragaman Sediaan <911>* dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan Penetapan kadar dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *kromatografi < 931 >*.

*Dapar pH 7,0, Dapar pH 5,0, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Seftriakson Natrium*.

*Larutan uji 1* Timbang saksama lebih kurang 40 mg Seftriakson untuk Injeksi, masukkan dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Gunakan larutan ini segera.

*Larutan uji 2* (Jika menggunakan wadah dosis tunggal). Konstitusikan *Seftriakson untuk Injeksi* dalam air yang diukur saksama sesuai jumlah pelarut yang tertera pada etiket. Ambil semua isi menggunakan jarum suntik hipodermik yang sesuai, encerkan secara kuantitatif dengan *Fase gerak* hingga diperoleh larutan dengan kadar 180  $\mu$ g per ml. Gunakan larutan ini segera.

*Larutan uji 3* (Pada etiket dinyatakan jumlah seftriakson dalam sejumlah volume larutan konstitusi). Konstitusikan seftriakson untuk injeksi dalam air, yang diukur saksama sesuai jumlah pelarut yang tertera pada etiket. Ukur saksama sejumlah volume larutan terkonstitusi, encerkan secara kuantitatif dengan *Fase gerak* hingga diperoleh larutan dengan kadar 180  $\mu$ g per ml. Gunakan larutan ini segera.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Seftriakson Natrium BPFi*. Hitung jumlah

dalam  $\mu\text{g}$  seftriakson,  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}_3$ , dari seftriakson dalam zat uji dengan rumus :

$$200 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

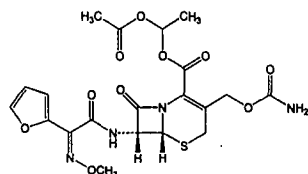
*C* adalah kadar Seftriakson Natrium BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; *P* adalah potensi seftriakson dalam  $\mu\text{g}$  per mg Seftriakson Natrium BPF1; *W* adalah jumlah dalam mg, Seftriakson untuk injeksi yang digunakan dalam Larutan uji 1;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak seftriakson dalam Larutan uji 1 dan Larutan baku. Hitung jumlah dalam mg Seftriakson,  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}_3$ , yang dikeluarkan dari wadah atau dalam zat uji dengan rumus :

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right) P$$

*C* adalah kadar Seftriakson Natrium BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; *L* adalah jumlah dalam mg Seftriakson yang tertera pada etiket atau dalam volume larutan konstitusi yang digunakan; *D* adalah kadar seftriakson dalam  $\mu\text{g}$  per ml Larutan uji 2 atau Larutan uji 3, berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket atau larutan konstitusi yang digunakan dan faktor pengencer; *P* adalah potensi Seftriakson dalam  $\mu\text{g}$  per ml Seftriakson natrium BPF1,  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak Seftriakson Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam Wadah untuk padatan steril seperti tertera pada Injeksi.

### SEFUROKSIM AKSETIL Cefuroxime Axetil



(*RS*)-1-hidroksietil(6*R*, 7*R*)-7-[2-(2-furil) glioksilamido]-3-(hidroksimetil)-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat, 7<sup>2</sup>-(*Z*)-(O-metiloksim), 1-asetat 3-karbamat  
[64544-07-6]  
 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$  BM 510,48

Sefuroksim Aksetil adalah campuran diastereoisomer dari Sefuroksim aksetil  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ , mengandung setara dengan tidak kurang dari 745  $\mu\text{g}$  dan tidak lebih dari 875  $\mu\text{g}$  per mg Sefuroksim,  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian Serbuk;** putih sampai hampir putih.

### Kelarutan

A. Bentuk amorf mudah larut dalam aseton; larut dalam kloroform, dalam etil asetat dan dalam metanol; sukar larut dalam etanol mutlak; tidak larut dalam eter dan dalam air.

B. Bentuk hablur mudah larut dalam aseton; agak sukar larut dalam kloroform, dalam etil asetat dan dalam metanol; sukar larut dalam etanol mutlak; tidak larut dalam eter dan dalam air.

**Baku pembanding Sefuroksim Aksetil BPF1**, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan; lakukan penetapan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan untuk analisis kuantitatif; simpan dalam lemari pendingin, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Isomer Delta-3 Sefuroksim Aksetil BPF1*, tidak boleh dikeringkan; simpan di lemari pembeku dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi Spektrum serapan inframerah** zat yang didispersikan dalam kalium bromida *P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti Sefuroksim Aksetil BPF1.

**Sifat hablur** <1091> Partikel yang tidak memperlihatkan "birefringence" atau tidak menunjukkan posisi gelap adalah amorf sedangkan partikel yang memperlihatkan "birefringence" dan menunjukkan posisi gelap adalah hablur.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,5%.

**Perbandingan diastereoisomer** Antara 0,48 dan 0,55. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Amonium fosfat monobasa 0,2 M, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan resolusi, Larutan baku, Larutan uji dan Sistem kromatografi. Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar. Hitung perbandingan diastereoisomer A sefuroksim aksetil terhadap jumlah diastereoisomer A sefuroksim aksetil dan diastereoisomer B sefuroksim aksetil dengan rumus:

$$\frac{r_A}{(r_A + r_B)}$$

$r_A$  dan  $r_B$  berturut-turut adalah respons puncak diastereoisomer A sefuroksim aksetil dan diastereoisomer B sefuroksim aksetil.

**Penetapan kadar** [Catatan Gunakan segera Larutan baku dan Larutan uji atau simpan dalam lemari pendingin dan gunakan pada hari pembuatan.] Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Amonium fosfat monobasa 0,2 M* Timbang 23 g *amonium fosfat monobasa P* dan masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Fase gerak* Buat campuran *Amonium fosfat monobasa 0,2 M-metanol P* (620:380), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku internal* Timbang sejumlah asetanilida, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 5,4 mg per ml.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 30 mg *Sefuroksim Aksetil BPFi*, dan masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda dan campur.

*Larutan isomer delta-3sefuroksim aksetil* Timbang saksama sejumlah *Isomer Delta-3 Sefuroksim Aksetil BPFi* larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,16 mg per ml.

*Larutan resolusi* Ke dalam labu tentukur 50-ml, masukkan 10 ml *Larutan baku persediaan*, 5 ml *Larutan baku internal* dan 3,8 ml *Larutan isomer delta-3sefuroksim aksetil*. Encerkan dengan *Amonium fosfat monobasa 0,2 M* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 10 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5 ml *Larutan baku internal* dan 3,8 ml *metanol P*, encerkan dengan *Amonium fosfat monobasa 0,2 M* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Segera pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5 ml *Larutan baku internal* dan 3,8 ml *metanol P*, encerkan dengan *amonium fosfat monobasa 0,2 M* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 278 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi *L13* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif asetanilida, diastereo isomer B sefuroksim aksetil, diastereoisomer A sefuroksim aksetil, isomer delta-3 sefuroksim aksetil berturut-turut adalah lebih kurang 0,4; 0,8; 0,9 dan 1,0. Resolusi, *R*, antara puncak diastereoisomer A sefuroksim aksetil dan diastereoisomer B sefuroksim aksetil tidak kurang dari 1,5 dan antara puncak diastereoisomer A sefuroksim aksetil dan isomer delta-3 sefuroksim aksetil tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom yang ditetapkan dari puncak diastereoisomer A sefuroksim aksetil tidak kurang dari 3000 lempeng teoritis; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg sefuroksim,  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ , dalam tiap mg zat dengan rumus:

$$\left(\frac{W_s}{W_u}\right)\left(\frac{P_s}{100}\right)(100-K)\left(\frac{R_u}{R_s}\right)$$

$W_s$  adalah bobot *Sefuroksim Aksetil BPFi* dalam mg yang digunakan untuk pembuatan *Larutan baku*;  $W_u$  bobot zat dalam mg yang digunakan untuk pembuatan *Larutan uji*;  $P_s$  adalah kadar sefuroksim dalam µg per mg *Sefuroksim Aksetil BPFi*;  $K$  adalah kadar air *Sefuroksim Aksetil BPFi* dalam persen;  $R_u$  dan  $R_s$  berturut-turut adalah perbandingan jumlah respons puncak diastereoisomer A sefuroksim aksetil dan diastereoisomer B sefuroksim aksetil terhadap respons puncak baku internal dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**Penandaan** Cantumkan bentuk amorf atau hablur.

## TABLET SEFUROKSIM AKSETIL Cefuroxime Axetil Tablet

Tablet Sefuroksim Aksetil mengandung Sefuroksim Aksetil setara dengan Sefuroksim,  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefuroksim Aksetil BPFi*, tidak boleh dikeringkan; tetapkan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan untuk analisis kuantitatif; simpan dalam lemari es, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Isomer Delta-3 Sefuroksim Aksetil BPFi*, tidak boleh dikeringkan; simpan di lemari pembeku dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Waktu retensi relatif puncak utama sefuroksim aksetil diastereoisomer A terhadap baku internal dan sefuroksim aksetil diastereoisomer B terhadap baku internal pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

#### Uji 1

*Media disolusi*: 900 ml asam klorida 0,07 N

*Alat tipe 2*: 55 rpm.

*Waktu*: 15 dan 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* dan serapan

larutan baku *Sefuroksim Aksetil BPFi* dengan kadar setara lebih kurang 0,01 sampai 0,02 mg per ml sefuroksim dalam media yang sama pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 278 nm.

**Toleransi** Dalam waktu 15 menit harus larut tidak kurang dari 60% (Q) dan dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket, kecuali untuk tablet yang mengandung setara dengan 500 mg sefuroksim, dalam waktu 15 menit, harus larut tidak kurang 50% (Q) dan dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q)  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Uji 2** Jika produk memenuhi uji ini, penandaan mencantumkan memenuhi *Uji disolusi 2*.

**Media disolusi, Waktu dan Prosedur:** Lakukan seperti tertera pada *Uji 1*.

**Alat tipe 2:** 100 rpm.

**Toleransi** Dalam waktu 15 menit harus larut tidak kurang dari 60% (Q) dan dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan**<911> Memenuhi syarat.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 6,0%.

**Penetapan kadar** [Catatan Gunakan segera Larutan baku dan Larutan uji atau simpan dalam lemari pendingin dan gunakan pada hari pembuatan.] Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Amonium fosfat monobasa 0,2 M, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan resolusi, Larutan baku persediaan, Larutan isomer delta-3sefuroksim aksetil, Larutan baku dan Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefuroksim aksetil*.

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 10 tablet, masukkan serbuk tablet dengan bantuan *metanol P* ke dalam labu tentukur dengan kapasitas yang cukup untuk membuat larutan dengan kadar setara dengan lebih kurang 2 mg per ml sefuroksim. Tambahkan *metanol P* ke dalam labu tentukur kurang lebih setengah dari kapasitas labu dan kocok secara mekanik lebih kurang 10 menit. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Saring larutan dan pipet 5 ml filtrat ke dalam labu tentukur 50-ml. Tambahkan 5 ml *Larutan baku internal* dan 8,8 ml *metanol P*, encerkan dengan *Amonium fosfat monobasa 0,2 M* sampai tanda.

**Prosedur** Lakukan sesuai *Prosedur* pada *Penetapan kadar* dalam *Sefuroksim aksetil*. Hitung jumlah dalam mg sefuroksim,  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ , dalam tiap tablet yang digunakan dengan rumus:

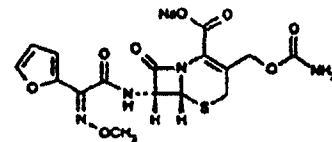
$$\left( \frac{V}{12.500N} \right) \left( \frac{P_s W_s}{100} \right) (100 - K) \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*V* adalah kapasitas labu tentukur dalam ml, yang digunakan untuk pembuatan *Larutan uji*; *N* adalah jumlah tablet yang digunakan; *W<sub>s</sub>* adalah bobot *Sefuroksim Aksetil BPFi* dalam mg yang digunakan untuk pembuatan *Larutan baku*; *P<sub>s</sub>* adalah kadar sefuroksim dalam µg per mg *Sefuroksim Aksetil BPFi*; *K* adalah kadar air *Sefuroksim Aksetil BPFi* dalam persen; *R<sub>u</sub>* dan *R<sub>s</sub>* berturut-turut adalah perbandingan jumlah respons puncak diastereoisomer A sefuroksim aksetil dan diastereoisomer B sefuroksim aksetil terhadap respons puncak baku internal dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**Penandaan** Cantumkan tablet mengandung sefuroksim aksetil amorf atau hablur. Jika tablet mengandung campuran sefuroksim aksetil amorf dan hablur, penandaan mencantumkan persentase masing-masing komponen. Cantumkan uji disolusi yang digunakan jika *Uji 1* tidak digunakan.

## SEFUROKSIM NATRIUM Cefuroxime Sodium



*Natrium (6R,7R) -7- [2- (2-furil) gliksilamido] -3- (hidroksimetil)-8-okso-5-tia-1-azabisiklo [4.2.0] okt-2-ena-2-karboksilat, 7<sup>2</sup>-(Z)-(O-metiloksim), karbamat (ester)* [56238-63-2]

$C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$

BM 446,37

Sefuroksim Natrium mengandung setara dengan tidak kurang dari 855 µg dan tidak lebih dari 1000 µg Sefuroksim,  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian Serbuk;** putih atau sedikit kekuningan.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, larut dalam metanol, sangat sukar larut dalam etanol, eter, etil asetat dan kloroform.

**Baku pembanding** *Sefuroksim Natrium BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, di tempat sejuk dan kering, terhindar dari cahaya. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Kromatogram *Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar* menunjukkan puncak utama sefuroksim dengan waktu retensi yang sama seperti pada *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 8,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10).

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 3,5%.

**Syarat lain** Bila dalam etiket tertera bahwa Sefuroksim Natrium adalah steril, memenuhi syarat seperti tertera pada *Sterilitas* dan *Endotoksin bakteri* dalam *Sefuroksim untuk Injeksi*. Bila dalam etiket tertera *Sefuroksim Natrium* dimaksudkan untuk diproses lebih lanjut selama penyiapan bentuk sediaan injeksi, memenuhi syarat *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Sefuroksim untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan Penetapan kadar dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar asetat pH 3,4* Masukkan 50 ml *natrium asetat* 0,1 M ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan *asam asetat* 0,1 N sampai tanda.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar asetat pH 3,4-asetonitril P* (lebih kurang 10:1). Saring melalui penyaring membran (dengan porositas 1 µm atau lebih halus), dan awaudarkan.

*Larutan baku internal* Buat larutan *orsinol P* dengan kadar 1,5 mg per ml dalam air.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sefuroksim Natrium BPFi*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet segera 5 ml, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan air sampai tanda. *Larutan baku* ini mengandung sefuroksim lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet segera 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L15* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom yang ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 1300 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,0; resolusi, *R*, antara puncak analit dan baku internal tidak kurang dari 3,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak utama; waktu retensi relatif sefuroksim dan orsinol berturut-turut lebih kurang 0,5 dan 1,0 Hitung jumlah dalam µg sefuroksim, (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S), per mg sefuroksim natrium dengan rumus :

$$1000 \left( \frac{C}{M} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sefuroksim Natrium BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *M* adalah kadar sefuroksim natrium dalam mg per ml dalam *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefuroksim terhadap puncak baku internal *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SEFUROKSIM UNTUK INJEKSI Cefuroxime for Injection

Sefuroksim untuk Injeksi mengandung sejumlah Sefuroksim Natrium, C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>8</sub>S setara dengan Sefuroksim, C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sefuroksim Natrium BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, di tempat sejuk dan kering, terhindar dari cahaya. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Pada saat digunakan, larutan terkonstitusi untuk penggunaan intravena yang dibuat dari *Sefuroksim untuk Injeksi* memenuhi syarat untuk *Larutan terkonstitusi* seperti *Penandaan* pada *Injeksi*.

**Endotoksin bakteri** Tidak lebih dari 0,10 unit Endotoksin FI per mg sefuroksim.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Penyaringan membran* seperti tertera pada *Uji Sterilitas* dari produk yang diuji.

**Keseragaman sediaan** Memenuhi syarat.

*Prosedur keseragaman kandungan* Lakukan penetapan seperti pada *Penetapan kadar* pada masing-masing wadah menggunakan *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* atau keduanya, bila diperlukan.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat, untuk *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Identifikasi, pH dan Air pada Sefuroksim Natrium*. Juga memenuhi syarat untuk *Penandaan pada Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 3,4, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefuroksim Natrium*.

*Larutan uji 1* (Bila sediaan dalam wadah dosis tunggal). Konstitusikan *Sefuroksim untuk Injeksi* ke dalam sejumlah air yang diukur saksama, sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Ambil seluruh isi menggunakan jarum suntik hipodermik yang sesuai dan encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar sefuroksim lebih kurang 1 mg per ml. Pipet segera 5 ml larutan yang telah terkonstitusi ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 2* (Bila pada etiket tertera jumlah sefuroksim dalam volume tertentu larutan terkonstitusi atau suspensi). Konstitusikan *Sefuroksim untuk Injeksi* dalam sejumlah air, yang diukur saksama, sesuai dengan volume pelarut yang tertera pada etiket. Sejumlah volume larutan terkonstitusi atau suspensi yang diukur saksama, encerkan dengan air hingga kadar sefuroksim lebih kurang 1 mg per ml. Pipet segera 5ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti *Prosedur* yang tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sefuroksim Natrium*. Hitung jumlah dalam mg sefuroksim,  $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ , yang dikeluarkan dari wadah atau bagian dari larutan yang terkonstitusi atau suspensi yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar sefuroksim dalam mg per ml *Larutan baku*; *L* adalah jumlah dalam mg sefuroksim dalam wadah atau dalam volume larutan yang dikonstitusi atau suspensi yang digunakan; *D* adalah kadar sefuroksim dalam mg per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* berdasarkan etiket pada wadah atau larutan yang dikonstitusi atau suspensi yang digunakan; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sefuroksim terhadap puncak baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Jika dilakukan uji *Keseragaman sediaan* menggunakan *Prosedur keseragaman kandungan*, maka gunakan rata-rata hasil uji sebagai nilai penetapan.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah untuk Padatan Steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

## **SEL DARAH MERAH PEKAT** **Concentrated Red Blood Cells**

Sel Darah Merah Pekat dibuat dari darah yang berasal dari satu donor dengan menghilangkan sejumlah plasma dan anti koagulan; mengandung volume padatan darah (PVC) lebih dari 70 % jika ditetapkan dengan cara sentrifugasi. Pemisahan dilakukan dengan metode tertentu yang dapat mencegah kontaminasi mikroorganisme pada komponen sel darah atau komponen plasma, sebaiknya dilakukan dengan sistem tertutup. Wadah segera ditutup kedap. Darah donor yang digunakan untuk pembuatan, sebaiknya berumur tidak lebih dari 14 hari sejak pengambilan, dan dapat di sentrifus lebih dulu untuk menghilangkan plasma dan anti koagulan.

**Pemerian Cairan** berwarna merah tua. Bila dibiarkan terbentuk sedimen sel darah merah, dan lapisan beningan (plasma) berwarna kuning.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan cara inokulasi langsung.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah steril, tertutup kedap, simpan pada suhu 2° sampai 8°.

**Penandaan** Pada etiket tertera : (1) Nomor kode dari donor darah asal, (2) Golongan ABO dan golongan Rh dari darah donor, antisera spesifik yang digunakan untuk menguji, (3) Waktu kedaluarsa, (4) Kondisi penyimpanan, (5) Antikoagulan yang ditambahkan, (6) Sediaan tidak boleh digunakan jika terlihat tanda-tanda kerusakan.

Sebelum transfusi sel darah merah pekat, harus dilakukan uji kesesuaian dengan darah penerima dan identitas penerima harus dinyatakan pada wadah.

## **SELENIUM SULFIDA** **Selenium Sulfide**

*Selenium sulfida* [7488-56-4]

SeS<sub>2</sub>

BM 143,09

Selenium Sulfida mengandung tidak kurang dari 52,0% dan tidak lebih dari 55,5% Se.

**Pemerian Serbuk**, cokelat kemerahan sampai jingga terang, hampir tidak berbau.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air dan dalam pelarut organik.

### Identifikasi

A. Saring 20 ml larutan yang dibuat seperti tertera pada Penetapan kadar, pada 10 ml filtrat tambahkan 5 ml air dan 5 g *urea P*. Panaskan hingga mendidih, dinginkan dan tambahkan 2 ml larutan *kalium iodida P* (1 dalam 10), terjadi warna jingga kekuningan sampai jingga, dan segera menjadi gelap (menunjukkan adanya selenium).

B. Biarkan larutan yang diperoleh pada *Identifikasi A* selama 10 menit, saring, pada filtrat tambahkan 10 ml *barium klorida LP*: larutan menjadi keruh (menunjukkan adanya belerang).

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,2%.

**Senyawa selenium yang larut** Tidak lebih dari 5 bpj.

*Larutan uji* Campur 10,0 g zat dengan 100,0 ml air dalam labu 250 ml, diamkan selama 1 jam sambil sering dikocok, lalu saring. Pada 10,0 ml filtrat tambahkan 2 ml asam format 2,5 M, encerkan dengan air hingga 50 ml, campur dan atur pH hingga 2,5±0,5. Tambahkan 2 ml larutan *3,3-diaminobenzidina hidroklorida P* (1 dalam 200) yang baru dibuat, campur, biarkan selama 45 menit, atur pH hingga 6,5 ± 0,5 dengan penambahan *amonium hidroksida 6 N*. Pindahkan ke dalam corong pisah, tambahkan 10,0 ml *toluen P*, kocok kuat selama 1 menit, biarkan lapisan memisah, buang lapisan air.

*Larutan baku* Dengan menggunakan 10,0 ml larutan *asam selenat P* yang mengandung 0,5 µg selenium per ml, buat larutan seperti tertera pada *Larutan uji*, mulai dengan "tambahkan 2 ml *asam format 2,5 M...*".

*Prosedur* Ukur serapan lapisan toluen dari *Larutan uji* dan *Larutan baku* dalam sel 1 cm pada panjang gelombang 420 nm, terhadap blangko yang dibuat dari jumlah pereaksi dan perlakuan yang sama seperti tertera pada *Larutan uji*: serapan *Larutan uji* tidak lebih besar dari *Larutan baku*.

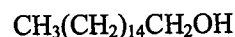
**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 25 ml *asam nitrat berasap P*, digesti dengan pemanasan hati-hati sampai larut sempurna. Dinginkan, pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 250-ml yang berisi 100 ml air, dinginkan lagi, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 50 ml larutan, masukkan ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 25 ml air dan 10 g *urea P*, panaskan hingga mendidih. Dinginkan, tambahkan 3 ml *kanji LP*, 10 ml larutan *kalium iodida P* (1 dalam 10) dan segera titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,05 N LV*. Lakukan juga penetapan pada blangko untuk koreksi.

Tiap ml *natrium tiosulfat 0,05 N*  
setara dengan 987,0 µg Se

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### SETIL ALKOHOL

#### Cetyl Alcohol



1-Heksadekanol [124-29-8; 36653-82-4]

C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>O

BM 242,44

Setil Alkohol mengandung tidak kurang dari 90,0% C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>O, selebihnya terdiri dari alkohol lain yang sejenis.

**Pemerian** Serpihan putih licin, granul, atau kubus, putih; bau khas lemah; rasa lemah

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam eter, kelarutan bertambah dengan naiknya suhu.

**Baku pembanding** *Stearil Alkohol BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Setil Alkohol BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan

**Identifikasi Waktu retensi puncak utama kromatogram** *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Jarak lebur <1021> Metode I** Antara 45° dan 50°; kecuali zat uji dimasukkan ke dalam tangas pada suhu lebih kurang sama dengan suhu kamar.

**Bilangan asam** Tidak lebih dari 2; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak <491>*

**Bilangan iodum** Tidak lebih dari 5; lakukan penetapan seperti tertera pada *Lemak dan Minyak Lemak <491>*.

**Bilangan hidroksil** Antara 218 dan 238. Timbang saksama lebih kurang 2 g masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml yang kering bersumbat kaca, tambahkan 2 ml *piridin P*, kemudian 10 ml *toluen P*. Tambahkan ke dalam campuran ini 10,0 ml larutan asetil klorida yang dibuat dengan mencampur 10 ml *asetil klorida P* dan 90 ml *toluen P*. Tutup dan celupkan ke dalam tangas air pada suhu antara 60° dan 65° selama 20 menit. Tambahkan 25 ml air, tutup kembali dan kocok kuat selama beberapa menit untuk menguraikan kelebihan asetil klorida. Netralkan dengan *natrium hidroksida 1 N LV* menggunakan indikator 0,5 ml *fenoltalein LP* sampai warna merah muda yang tidak berubah, kocok kuat menjelang akhir titrasi untuk menjaga agar larutan tetap dalam kondisi teremulsi. Lakukan penetapan blangko. Selisih jumlah ml *natrium hidroksida 1 N LV* yang digunakan pada penetapan *Larutan uji* dan *Larutan blangko*, dikalikan dengan 56,1 dan hasilnya dibagi dengan bobot dalam g setil alkohol yang digunakan, adalah bilangan hidroksil dari setil alkohol.



**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang lebih kurang 90 mg *Setil Alkohol BPFI* dan 10 mg *Stearil Alkohol BPFI*, larutkan dalam 10,0 ml *etanol P*.

*Uji kesesuaian sistem* Suntikkan 2 µl *Larutan kesesuaian sistem* dan hitung resolusi, R, setil alkohol dan stearil alkohol: tidak kurang dari 4,0. Lakukan penyuntikkan ulang 2 µl *Larutan kesesuaian sistem* hingga diperoleh perbandingan luas puncak antara setil alkohol dan stearil alkohol pada lima kali penyuntikkan ulang masing-masing sekitar 1,5% terhadap rata-rata dari perbandingan luas puncak pada kelima penyuntikkan.

*Sistem kromatografi* Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom 3 mm x 2 m berisi bahan pengisi 10% fase diam G2 pada partikel penyangga SIA. Gunakan *helium P* kering sebagai gas pembawa. Pertahankan suhu kolom, injektor dan detektor berturut-turut pada lebih kurang 205°, 275° dan 250°.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 2 µl) larutan setil alkohol dalam *etanol mutlak P* (1 dalam 100). Ukur luas puncak dari komponen alkohol berantai panjang di dalam kromatogram dan tetapkan persentase C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>O dalam setil alkohol yang digunakan dengan rumus:

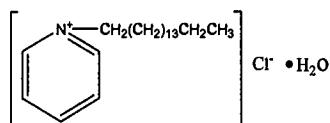
$$100 \left( \frac{C}{B} \right)$$

C adalah luas puncak yang dihasilkan oleh setil alkohol; B adalah jumlah luas puncak semua alkohol berantai panjang dalam kromatogram.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SETILPIRIDINIUM KLORIDA

### Cetylpyridinium Chloride



1-Heksadesilpiridinium klorida monohidrat [6004-24-6]  
 C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN.H<sub>2</sub>O BM 358,01  
 Anhidrat [123-03-5] BM 339,99

Setilpiridinium Klorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk; putih; bau khas lemah

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air, dalam etanol dan dalam kloroform; sukar larut dalam benzen dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Setilpiridinium Klorida BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Setilpiridinium Klorida BPFI*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 25.000) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Setilpiridinium Klorida BPFI*

C. Larutkan 100 mg dalam 50 ml air. Pada 10 ml larutan memberikan reaksi *Klorida*, seperti tertera pada reaksi *Uji Identifikasi Umum <291>* kecuali tidak terbentuk endapan putih, melainkan kekeruhan, pada waktu ditambahkan larutan *perak nitrat LP*

**Jarak lebur <1021>** Antara 80° dan 84°; lakukan penetapan tanpa dikeringkan terlebih dahulu.

**Keasaman <1071>** Timbang saksama dan larutkan 500 mg zat dalam 50 ml air, netralkan dengan *natrium hidroksida 0,020 N* menggunakan indikator *fenolfthalein LP* : dibutuhkan tidak lebih dari 2,5 ml.

**Air <1031>** Antara 4,5 % dan 5,5 %; lakukan penetapan menurut *Metode I* seperti tertera pada *Penetapan kadar air*.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,2 %, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Logam berat <371>** *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpi.

**Piridin** Larutkan 1 g dalam 10 ml *natrium hidroksida P* 10% tanpa pemanasan; bau piridin tidak segera dapat tercium.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>** Memenuhi syarat

*Larutan baku dan Larutan uji* Buat *Larutan uji* dengan kadar 20 mg per ml dan *Larutan baku* dengan kadar dua kali *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 200 mg masukkan ke dalam gelas ukur 250 ml bersumbat kaca yang berisi 75 ml air. Tambahkan 10 ml *kloroform P*, 0,4 ml larutan *biru bromofenol P* (1 dalam 2000) dan 5 ml larutan segar *natrium bikarbonat P* 0,42%. Titrasi dengan *natrium tetrafenilboron 0,02 M LV* hingga warna biru hilang dari lapisan kloroform. Mendekati titik akhir lakukan titrasi perlahan-lahan dan kocok kuat setiap kali penambahan.

Tiap ml *natrium tetrafenilboron 0,02 M* setara dengan 6,800 mg C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SETRIMIDA Cetrimide

Setrimida [505-86-2]  
 $C_{17}H_{38}BrN$

BM 336,4

Setrimida terdiri dari trimetiltetradesilamonium bromida dan boleh mengandung sejumlah kecil dodesil dan heksadesil-trimetilamonium bromida. Setrimida mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 101,0% Alkiltrimetilamonium Bromida dihitung sebagai,  $C_{17}H_{38}BrN$ , terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk, putih atau hampir putih; voluminus; mengalir bebas; agak berbau dan khas.

**Kelarutan** Larut dalam 2 bagian air; mudah larut dalam etanol dan dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

### Identifikasi

A. Serapan larutan 250 mg dalam 25 ml etanol P pada panjang gelombang antara 260 nm dan 280 nm tidak lebih dari 0,05.

B. Larutkan 5 mg dalam 5 ml dapar fosfat pH 8, tambahkan sepotong kertas hijau metil-raksa(II) iodida P; setelah 5 menit warna biru kehijauan larutan lebih intensif dari pada warna larutan blanko yang diperlakukan sama.

C. Menunjukkan reaksi Bromida cara B seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

D. Larutan 2,0% dalam air bebas karbon dioksida P (Larutkan A); terbentuk busa yang banyak pada pengocokan.

**Keasaman-kebasaan** Pada 50 ml Larutan A tambahkan 0,1 ml ungu bromokresol LP; tidak lebih dari 0,1 ml asam klorida 0,1 N LV atau natrium hidroksida 0,1 N LV yang diperlukan untuk mengubah warna larutan.

**Kerjenihan larutan** <881> Harus jernih; lakukan penetapan menggunakan larutan A yang diperoleh dari Identifikasi.

**Warna dan Akromisitas** <1291> Metode III Larutan A tidak berwarna.

**Amina non kuarternier** Larutkan 5 g dalam 30 ml campuran metanol P-asam klorida 1 N (99:1), tambahkan 100 ml isopropanol P. Alirkan perlahan-lahan nitrogen P melalui larutan dan titrasi secara potensiometrik dengan tetrabutilamonium hidroksida 0,1 M LV sampai sebanyak 15,0 ml. Jika diamati adanya dua infleksi maka volume larutan titer yang ditambahkan diantara dua titik infleksi tidak lebih dari 2,0 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan pada suhu antara 100°-105° selama 2 jam, menggunakan 1 g zat.

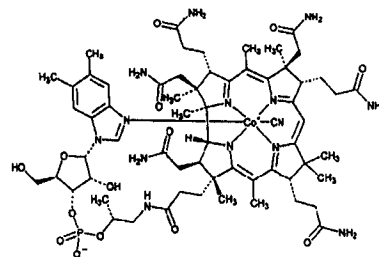
**Sisa pemijaran** <301> Metode II Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Penetapan kadar** Timbang seksama lebih kurang 2 g zat, larutkan dalam air secukupnya hingga 100 ml. Pipet 25 ml ke dalam corong pisah, tambahkan 25 ml kloroform P, 10 ml natrium hidroksida 0,1 N dan 10,0 ml larutan segar kalium iodida P 5,0%. Kocok, biarkan memisah dan buang lapisan kloroform. Cuci lapisan air tiga kali, tiap kali dengan 10 ml kloroform P dan buang kloroform. Tambahkan 40 ml asam klorida P, dinginkan dan titrasi dengan kalium iodat 0,05 M LV sampai warna cokelat tua hampir hilang. Tambahkan 2 ml kloroform P dan lanjutkan titrasi dengan pengocokan sampai lapisan kloroform tidak berubah warna. Lakukan penetapan blanko terhadap campuran 10,0 ml larutan segar kalium iodida P, 20 ml air dan 40 ml asam klorida P. Perbedaan pada titrasi menunjukkan jumlah kalium iodat yang diperlukan.

Tiap ml kalium iodat 0,05 M  
setara dengan 33,64 mg  $C_{17}H_{38}BrN$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SIANOKOBALAMIN Vitamin B<sub>12</sub> Cyanocobalamin



Vitamin B<sub>12</sub>[68-19-9]  
 $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$

BM 1355,37

Sianokobalamin mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau amorf merah tua atau serbuk hablur merah. Bentuk anhidrat sangat higroskopis. Jika terpapar udara menyerap air lebih kurang 12%.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; larut dalam etanol; tidak larut dalam aseton, dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding Sianokobalamin BPFi;** lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan yang diperoleh pada *Penetapan kadar* menunjukkan maksimum pada panjang gelombang lebih kurang  $278 \pm 1$  nm,  $361 \pm 1$  nm dan  $550 \pm 2$  nm. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 nm dan 278 nm adalah antara 1,70 dan 1,90; dan perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 nm dan 550 nm adalah antara 3,15 dan 3,40.

B. Lebur lebih kurang 1 mg zat dengan lebih kurang 50 mg *kalium piro-sulfat P* dalam krus porselen. Dinginkan, aduk dengan batang pengaduk kaca, tambahkan 3 ml air, didihkan hingga larut. Tambahkan 1 tetes *fenolftalein LP* dan tambahkan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10), tetes demi tetes sampai merah muda. Tambahkan 500 mg *natrium asetat P*, 0,5 ml *asam asetat 1 N*, dan 0,5 ml larutan garam *nitroso R* (1 dalam 500); segera terjadi warna merah atau merah jingga. Tambahkan 0,5 ml *asam klorida P* dan didihkan selama 1 menit: warna merah tetap.

C. Larutkan lebih kurang 5 mg zat dalam 5 ml air di dalam labu destilasi 50 ml yang dihubungkan dengan pendingin balik pendek yang dialiri air. Ke dalam labu tambahkan 2,5 ml *asam hipofosfit P*, tutup, didihkan sebentar dengan perlahan-lahan selama 10 menit, kemudian destilasi 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 50). Ke dalam tabung reaksi tambahkan 4 tetes larutan jenuh *besi(II)amonium sulfat P* dingin, kocok hati-hati, kemudian tambahkan lebih kurang 30 mg *natrium fluorida P*, panaskan hingga mendidih. Segera tambahkan tetes demi tetes *asam sulfat 5 N* sampai larutan jernih, kemudian tambahkan 3 - 5 tetes *asam sulfat 5 N*: terjadi warna biru atau hijau-biru dalam beberapa menit.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 12,0%; lakukan pengeringan dalam tabung pengering hampa udara yang sesuai, tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam, menggunakan lebih kurang 25 mg zat.

**Pseudo sianokobalamin** Larutkan lebih kurang 1,0 mg zat dalam 20 ml air di dalam corong pisah kecil, tambahkan 5 ml campuran volume sama *karbon tetraklorida P* dan *m-kresol P*, kocok baik-baik selama lebih kurang 1 menit. Biarkan memisah, pindahkan lapisan bawah ke dalam corong pisah kecil kedua, tambahkan 5 ml *asam sulfat 5 N*, kocok dan biarkan memisah sempurna (dapat dengan cara sentrifus): lapisan atas tidak berwarna atau warnanya tidak lebih tua dari campuran 0,15 ml *kalium permanganat 0,10 N* dan 250 ml air.

#### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sianokobalamin BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang  $30 \mu\text{g}$  per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur Ukur* serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 361 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg sianokobalamin,  $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Sianokobalamin BPFi* dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan dalam suhu ruang terkendali.

#### INJEKSI SIANOKOBALAMIN Cyanocobalamin Injection

Injeksi Sianokobalamin adalah larutan steril Sianokobalamin dalam Air untuk Injeksi atau air untuk injeksi yang dibuat isotonik dengan penambahan *natrium klorida P*. Mengandung Sianokobalamin,  $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 115,0%, dihitung terhadap zat anhidrat dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Sianokobalamin BPFi;** lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Spektrum serapan ultraviolet larutan yang diperoleh pada *Penetapan kadar* pada panjang gelombang antara 300 nm dan 550 nm menunjukkan maksimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sianokobalamin BPFi*. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 nm dan 550 nm adalah antara 3,15 dan 3,40.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,4 unit Endotoksin FI per  $\mu\text{g}$  sianokobalamin.

pH <1071> Antara 4,5 dan 7,0.

Syarat lain Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

#### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sianokobalamin BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 30 µg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume larutan injeksi setara dengan tidak kurang dari 300 µg sianokobalamin, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 30 µg per ml.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 361 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung jumlah dalam µg sianokobalamin,  $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ , dalam tiap ml injeksi dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Sianokobalamin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $V$  adalah volume dalam ml injeksi yang digunakan;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I. Simpan pada suhu ruang terkendali.

### KAPSUL SIANOKOBALAMIN $^{57}Co$ Cyanocobalamin $^{57}Co$ Capsule

*Vitamin B<sub>12</sub>* -  $^{57}Co$  [41559-38-0; 13115-03-2]

Kapsul Sianokobalamin  $^{57}Co$  mengandung sianokobalamin yang sebagian molekulnya mengandung kobalt radioaktif ( $^{57}Co$ ) dalam struktur molekulnya. Tiap kapsul mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah  $^{57}Co$  sebagai sianokobalamin pada waktu yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq (µCi) per µg sianokobalamin  $^{57}Co$ . Kandungan sianokobalamin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sianokobalamin BPFi*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi radionuklida** Larutkan isi 1 kapsul atau lebih dalam air, memenuhi uji Identifikasi radionuklida seperti tertera pada *Larutan Oral Sianokobalamin  $^{57}Co$* .

**Aktivitas spesifik** Tidak kurang dari 0,02 MBq (0,5 µCi) per µg sianokobalamin.

**Kemurnian radiokimia** Larutan dari 1 atau lebih kapsul dalam air memenuhi syarat Kemurnian radiokimia seperti tertera pada *Larutan Oral Sianokobalamin  $^{57}Co$* .

**Kemurnian radionuklida** Larutan dari 1 atau lebih kapsul dalam air, biarkan selama 10 menit, dan sentrifus. Memenuhi syarat Kemurnian radionuklida seperti tertera pada *Larutan Oral Sianokobalamin  $^{57}Co$* .

**Waktu hancur** 30 menit; lakukan pengujian dengan 1 kapsul dalam *asam klorida 1 N* pada suhu  $37^{\circ} \pm 2^{\circ}$ .

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

*Prosedur untuk keseragaman kandungan* Ukur radioaktivitas masing-masing dari 20 kapsul menggunakan alat pencacah yang sesuai dengan kondisi geometri yang sama. Hitung nilai radioaktivitas rata-rata per kapsul. Radioaktivitas kapsul tidak berbeda 10% dari rata-rata. Simpangan baku relatif tidak kurang dari 3,5%.

**Kandungan sianokobalamin** Lakukan penetapan kandungan sianokobalamin dalam µg per kapsul seperti tertera pada *Penetapan Aktivitas Vitamin B<sub>12</sub>* <91>.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq (µCi) per Kapsul Sianokobalamin  $^{57}Co$  menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas* <1171>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya. Simpan pada tempat dingin.

**Penandaan** Pada etiket harus juga tertera: (1) Tanggal dan waktu kalibrasi, (2) Jumlah sianokobalamin yang dinyatakan dalam µg per kapsul, (3) Jumlah  $^{57}Co$  sebagai sianokobalamin yang dinyatakan dalam MBq (µCi) per kapsul pada saat kalibrasi, (4) waktu kadaluwarsa, (5) Pernyataan "Awas bahan radioaktif", (6) Dalam perhitungan dosis, lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (7) Waktu paruh  $^{57}Co$  adalah 270,9 hari.

### LARUTAN ORAL SIANOKOBALAMIN $^{57}Co$ Cyanocobalamin $^{57}Co$ Oral Solution

*Vitamin B<sub>12</sub>* -  $^{57}Co$  [41559-38-0; 13115-03-2]

Larutan Oral Sianokobalamin  $^{57}Co$  adalah larutan untuk pemberian oral; mengandung Sianokobalamin yang

sebagian molekulnya mengandung Kobalt radioaktif ( $^{57}\text{Co}$ ) dalam struktur molekulnya. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah  $^{57}\text{Co}$  sebagai sianokobalamin dalam satuan MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) per ml pada waktu yang tertera pada etiket. Kandungan sianokobalamin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Larutan Oral Sianokobalamin  $^{57}\text{Co}$  mengandung antimikroba yang sesuai.

**Baku pembanding Sianokobalamin BPF1;** lakukan pengeringan di atas silika gel P selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada *Radioaktivitas <1171>*. Spektrum sinar gamma sesuai dengan  $^{57}\text{Co}$  yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui, menunjukkan puncak energi utama 0,122 MeV.

**Aktivitas spesifik** Tidak kurang dari 0,02 MBq (0,5  $\mu\text{Ci}$ ) per  $\mu\text{g}$  sianokobalamin.

**pH <1071>** Antara 4,0 dan 5,5.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat, untuk larutan oral yang dikemas dalam wadah dosis tunggal.

**Volume terpindahkan <1261>** Memenuhi syarat, untuk larutan oral yang dikemas dalam wadah dosis ganda.

**Kemurnian radiokimia** Tidak kurang dari 90,0% jumlah radioaktivitas  $^{57}\text{Co}$ . Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat larutan 10 g natrium fosfat dibasa P dalam 1000 ml air, atur pH hingga 3,5 dengan penambahan asam fosfat P. Buat campuran larutan-metanol P (73,5:26,5), campur dan awaudarakan. Gunakan dalam waktu 2 hari.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 10 mg Sianokobalamin BPF1 masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Gunakan larutan oral zat uji.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 361-nm, detektor gamma yang diatur untuk  $^{57}\text{Co}$  dan kolom baja tahan karat 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5  $\mu\text{m}$ . Laju alir lebih kurang 1 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 100  $\mu\text{l}$  Larutan baku ke dalam kromatograf, rekam kromatogram selama 30 menit, dan catat waktu retensi puncak

sianokobalamin. Suntikkan lebih kurang 100  $\mu\text{l}$  Larutan uji ke dalam kromatograf, dan rekam kromatogram selama tiga kali waktu retensi sianokobalamin. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak menggunakan detektor gamma. Hitung persentase sianokobalamin sebagai  $^{57}\text{Co}$  sianokobalamin dalam larutan oral dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_U}{r_T} \right)$$

$r_U$  adalah respons puncak  $^{57}\text{Co}$  sianokobalamin dari Larutan uji;  $r_T$  adalah jumlah seluruh respons puncak dari Larutan uji.

**Kemurnian radionuklida** Total radioaktivitas  $^{60}\text{Co}$  tidak lebih dari 1% dan total radioaktivitas  $^{58}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Co}$  dan cemaran radionuklida lain tidak lebih dari 2%. Lakukan penetapan menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>* dan larutan baku  $^{58}\text{Co}$ ,  $^{57}\text{Co}$  dan  $^{60}\text{Co}$ , rekam spektrum gamma larutan oral. Spektrum tidak berbeda secara bermakna dari larutan baku  $^{57}\text{Co}$ . Lakukan penetapan jumlah relatif  $^{58}\text{Co}$ ,  $^{57}\text{Co}$  dan  $^{60}\text{Co}$ .  $^{58}\text{Co}$  mempunyai waktu paruh 70,9 hari dan keberadaannya ditunjukkan oleh 0,511 MeV dan 0,811 MeV foton gamma.  $^{60}\text{Co}$  mempunyai waktu paruh 5,27 tahun dan keberadaannya ditunjukkan oleh 1,173 MeV dan 1,333 MeV foton gamma.

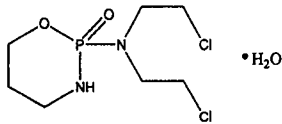
**Kandungan sianokobalamin** Lakukan penetapan kandungan sianokobalamin dalam  $\mu\text{g}$  per ml seperti tertera pada *Penetapan Aktivitas Vitamin B<sub>12</sub><91>*.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) per ml larutan oral sianokobalamin  $^{57}\text{Co}$  menggunakan alat pencacah yang sesuai seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan pada tempat dingin.

**Penandaan** Pada etiket harus juga tertera (1) Tanggal dan waktu kalibrasi, (2) Jumlah  $^{57}\text{Co}$  sebagai sianokobalamin yang dinyatakan dalam MBq ( $\mu\text{Ci}$ ) jumlah dan per ml pada saat kalibrasi, (3) Jumlah sianokobalamin dinyatakan dalam  $\mu\text{g}$  per ml, (4) Nama dan jumlah pengawet yang ditambahkan, (5) Waktu kadaluwarsa, (6) Pernyataan "Awas bahan radioaktif", (7) Dalam perhitungan dosis, lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (8) Waktu paruh  $^{57}\text{Co}$  adalah 270,9 hari, (9) Larutan harus terlindung cahaya.

**SIKLOFOSFAMIDA**  
**Cyclophosphamide**



(±)2-[Bis(2-kloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2,-  
oksazafosforin2-oksida monohidrat [6055-19-2]  
C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P.H<sub>2</sub>O BM 279,10  
C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P BM 261,09

Siklofosfamida mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P, dihitung sebagai zat anhidrat. [Perhatian Hati-hati bekerja dengan siklofosfamida karena bersifat sitotoksik.]

**Pemerian** Serbuk hablur putih, pada penghabluran terbentuk molekul air.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam etanol.

**Baku pembanding** *Siklofosfamida BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, untuk penggunaan analisis kuantitatif tetapkan kadar air secara titrimetri. Simpan pada wadah tertutup rapat pada suhu antara 2°-8°. *Senyawa Sejenis A Siklofosfamida BPFI*; *Senyawa sejenis B Siklofosfamida BPFI*; *Senyawa sejenis C Siklofosfamida BPFI*; *Senyawa sejenis D Siklofosfamida BPFI*; *Propranolamin BPFI*; *Endotoksin BPFI* [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Siklofosfamida BPFI*.

B. Waktu retensi relatif puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh dari *Penetapan kadar*.

**pH** <1071> Antara 3,9-7,1; lakukan penetapan menggunakan larutan 1% ukur setelah 30 menit larutan dibuat.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,0625 unit Endotoksin FI per mg siklofosfamida; jika pada etiket tercantum siklofosfamida steril.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; jika pada etiket terterasiklofosfamidasteril.

**Air** <1031> Metode I Antara 5,7%-8%.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 0,033%.

*Larutan uji* Larutkan 2,0 g zat dalam 30 ml air tambahkan 80 ml isopropil alkohol P dan 5 ml *larutan asam nitrat P 10%*. Titrasi dengan *perak nitrat 0,01 N LV*, tentukan titik akhir secara potensiometrik seperti tertera pada *Titrimetri* <711>. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *perak nitrat 0,01 N*  
setara dengan 0,355 mg klorida

Hitung persentase klorida dalam siklofosfamida dengan rumus:

$$100F \left( \frac{N}{TN} \right) \left( \frac{(V-B) \times 100}{W \times (100-A)} \right)$$

V adalah volume dalam ml titran untuk *Larutan uji*; B adalah volume dalam ml titran untuk blangko; N adalah normalitas titran; TN adalah normalitas teoritis, 0,01 N; F adalah faktor kesetaraan, 0,355 mg ion klorida per ml TN; W adalah bobot zat dalam mg; A adalah faktor koreksi untuk air.

**Fosfat** Tidak lebih dari 0,01%.

*Pengencer* Buat larutan asam klorida 0,2 g per ml dalam air.

*Larutan A* Panaskan 20 g timah dalam 85 ml *asam klorida P* sampai tidak ada lagi hidrogen yang dihasilkan. Biarkan dingin. Masukkan 1,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan baku persediaan* Buat larutan kalium fosfat monobasa 0,72 mg per ml. Masukkan 1,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan air sampai tanda. Buat segera sebelum digunakan.

*Larutan baku* Buat campuran *Larutan baku persediaan-air* (1:49). Buat segera sebelum digunakan. [Catatan *Larutan ini mengandung PO<sub>4</sub>* dengan kadar 0,1 µg per ml.]

*Larutan uji* Buat larutan siklofosfamida 1 mg per ml dalam air.

*Prosedur* Masukkan masing-masing 4 ml *asam sulfomolibdat LP* ke dalam wadah terpisah *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Kocok dan tambahkan 0,1 ml *Larutan A*. Setelah 10 menit, bandingkan warna menggunakan masing-masing 20 ml larutan dalam tabung pembanding warna dan lihat di atas permukaan putih secara vertikal dengan cahaya matahari. Warna larutan yang diperoleh dari *Larutan uji* tidak lebih intensif dibandingkan dari *Larutan baku*.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 1,0 g zat dalam 25 ml air, saring jika perlu.

**Propranolamin** Tidak lebih dari 0,025%. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak A* Buat campuran toluen *P*-metilen klorida *P*-metanol *P* (5:5:1). Larutan dibuat segar.

*Fase gerak B* Campuran metanol *P*-asam asetat glasial *P* (9:1).

*Pengencer* Campuran diklormetan *P* dan etanol mutlak *P* (17:3).

*Larutan baku* Timbang sejumlah Propanolamin *BPF1*. arutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 12,5 µg per ml. [Catatan Kadar propanolamin dalam *Larutan baku* adalah 0,025% dari siklofosfamida dalam *Larutan uji*.]

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat, larutkan dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml.

*Larutan A* Buat campuran asam klorida *P*-air (7:18).

*Larutan B* Buat larutan kalium permanganat dalam air hingga kadar lebih kurang 5 mg per ml.

*Penampak bercak A* Buat campuran *Larutan A*-*Larutan B* (1:1). [Catatan Campurkan dalam gelas piala kecil pada saat akan digunakan dalam lemari asam hingga menghasilkan gas klorin dan segera simpan gelas piala yang berisi larutan dalam bejana kromatografi tertutup, simpan di lemari asam.]

*Penampak bercak B* Larutkan 100 mg tetrametilbenzidin dalam 2,5 ml diklormetan *P* dan encerkan dengan sikloheksan *P* hingga 100 ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah sejumlah volume sama lebih kurang 2 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi silika gel *P* setebal 0,1 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak A*, biarkan merambat hingga lebih dari 7 cm, angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering di udara selama 15 menit. Masukkan lagi lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak B* biarkan merambat hingga lebih dari 2 cm, angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering di udara selama tidak kurang dari 10 menit. [Catatan Masukkan *Fase gerak B* ke dalam bejana kromatografi 15 menit sebelum digunakan.] Keringkan lempeng pada hampa udara pada suhu 45° selama 50 menit. Simpan lempeng pada bejana kromatografi tertutup yang berisi *Penampak bercak A* di dalam lemari asam, biarkan selama 10 menit. Angkat lempeng dan simpan di lemari asam biarkan selama 10 menit untuk menguapkan kelebihan klorin. Warnai lempeng dengan merendam dalam *Penampak bercak B*. Angkat lempeng biarkan selama 15 menit amati dengan densitometer yang sesuai dilengkapi filter yang mempunyai transmisi maksimum 375 nm. Harga *R<sub>f</sub>* bercak utama dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*. Bercak propanolamin dari *Larutan uji* tidak lebih intensif dari bercak *Larutan baku*.

**Senyawa sejenis** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran diklormetan *P*-asam asetat glasial *P*-metanol *P*-air (50:25:15:12).

*Pengencer* Buat campuran metanol *P*-air (1:1).

*Larutan baku A* Timbang sejumlah *Senyawa Sejenis A* Siklofosfamida *BPF1* larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 12 µg per ml.

*Larutan baku B* Timbang sejumlah *Senyawa Sejenis B* Siklofosfamida *BPF1* larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 12 µg per ml.

*Larutan baku C* Timbang sejumlah *Senyawa Sejenis C* Siklofosfamida *BPF1* larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 12 µg per ml.

*Larutan baku D* Timbang sejumlah *Senyawa Sejenis D* Siklofosfamida *BPF1* larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 15 µg per ml. [Catatan *Senyawa Sejenis D* Siklofosfamida adalah dalam bentuk basa (BM 260,66) dan *Senyawa sejenis D* Siklofosfamida *BPF1* dalam bentuk garam dihidroklorida (BM 333,58).]

*Larutan baku E* Timbang sejumlah Siklofosfamida *BPF1* larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 12 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Penampak bercak A* Timbang sejumlah kalium permanganat *P* larutkan dalam air hingga kadar 3,16 mg per ml. Tambahkan dengan volume sama larutan asam klorida *P*10%.

*Penampak bercak B* Larutkan 250 mg tetrametilbenzidin dalam 50 ml etanol mutlak *P* encerkan dengan sikloheksan *P* hingga 200 ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 20 µl *Larutan baku A*, *Larutan baku B*, *Larutan baku C*, *Larutan baku D*, *Larutan baku E* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi silika gel *F<sub>254</sub>* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* biarkan merambat hingga lebih kurang 10 cm, angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering dalam lemari asam selama 15 menit, pada suhu ruang. Masukkan lagi lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* yang baru, biarkan merambat hingga lebih kurang 10 cm, angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering dalam lemari asam selama 15 menit, pada suhu ruang. Totolkan 20 µl *Larutan baku E* pada garis penotolan awal, keringkan lempeng dalam oven pada suhu 50° selama 20 menit atau gunakan pemanas lempeng pada suhu 50° selama 20 menit dalam lemari asam. Diamkan lempeng pada suhu ruang selama 5 menit. Simpan lempeng pada bejana kromatografi tertutup yang berisi *Penampak bercak A* di dalam lemari asam, diamkan selama 15 menit. Angkat lempeng dan simpan di lemari asam, diamkan selama 15 menit untuk menguapkan kelebihan klorin. Warnai lempeng dengan merendam atau semprot dengan *Penampak bercak B*. Angkat lempeng, amati secara visual. Bercak *Senyawa Sejenis A* Siklofosfamida dalam kromatogram *Larutan uji* tidak lebih intensif dari *Larutan baku A*. Bercak *Senyawa Sejenis B* Siklofosfamida dalam kromatogram *Larutan uji* tidak lebih intensif dari *Larutan baku B*. Bercak *Senyawa Sejenis C* Siklofosfamida dalam kromatogram *Larutan uji* tidak lebih intensif dari *Larutan baku C*.

Bercak *Senyawa Sejenis D Siklofosfamida* dalam kromatogram *Larutan uji* tidak lebih intensif dari dalam *Larutan baku D*. Bercak cemar tidak spesifik pada *Larutan uji* tidak lebih intensif dari bercak siklofosfamida dari *Larutan baku E*.

Nama	Faktor retardasi	Tidak lebih dari (%)
<i>Senyawa Sejenis D Siklofosfamida<sup>a</sup></i>	0,15	0,06
<i>Senyawa Sejenis C Siklofosfamida<sup>b</sup></i>	0,20	0,06
<i>Senyawa Sejenis B Siklofosfamida<sup>c</sup></i>	0,43	0,06
<i>Senyawa Sejenis A Siklofosfamida<sup>d</sup></i>	0,90	0,06
<i>Cemaran tidak spesifik</i>	-	0,06

<sup>a</sup>3-[2-(2-kloroetilamino)etilamino]propil dihidrogen fosfat

<sup>b</sup>3-Aminopropil dihidrogen fosfat.

<sup>c</sup>3-[2-(2-kloroetil)-2-okso-2-hidroksi-1,3,6,2-oksadiazafosfonan.

<sup>d</sup>Bis (2-kloroetil)amin hidroklorida.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P*-air (3:7), saring dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan etilparaben* Larutkan 185 mg *etilparaben P* dalam 250 ml *etanol P* dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Siklofosfamida BPFi* setara dengan lebih kurang 25 mg siklofosfamida anhidrat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 25 ml air, kocok hingga larut. Masukkan 5,0 ml *Larutan etilparaben*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Siklofosfamida BPFi*, larutkan dan encerkan dengan air hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan air hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV 195 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif siklofosfamida dan etilparaben berturut-turut tidak kurang 0,7 dan 1,0; resolusi, *R*, antara siklofosfamida dan etilparaben tidak kurang dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase,

siklofosfamida,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_S}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_S$  adalah kadar *Siklofosfamida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar siklofosfamida dalam mg per ml *Larutan uji*; kadar dihitung terhadap zat anhidrat;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, simpan pada suhu antara 2°-30°.

**Penandaan** Jika pada etiket dinyatakan siklofosfamida steril, harus dilakukan uji terhadap *Endotoksin bakteri <201>* dan *Sterilitas <71>*.

#### TABLET SIKLOFOSFAMIDA Cyclophosphamide Tablet

Tablet Siklofosfamida mengandung Siklofosfamida anhidrat,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Siklofosfamida BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, untuk penggunaan analisis kuantitatif tetapkan kadar air secara titrimetri. Simpan pada wadah tertutup rapat pada suhu antara 2°-8°.

#### Identifikasi

A. Ekstraksi sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg siklofosfamida dengan 25 ml *Kloroform P*, saring. Lebih kurang 2 ml filtrat, campur dengan 500 mg *kalium bromida P*, uapkan kloroform, hilangkan sisa pelarut dengan hati-hati dalam labu hampa udara kecil, gunakan residu untuk penetapan: spektrum serapan infra merah residu yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Siklofosfamida BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml air, awadarakan.

*Alat tipe 1*: 100 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran air-asetonitril P (7:3), saring dan awadarakan. Lakukan penyesuaian menurut



*Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Siklofosfamida BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar mendekati kadar *Larutan uji*.

*Larutan uji* Gunakan alikuot. Saring melalui penyaring dengan porositas 0,8 µm.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV 195 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, siklofosfamida,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , yang terlarut dengan rumus:

$$900C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Siklofosfamida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q), siklofosfamida,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.**

*Prosedur untuk keseragaman kandungan.*

*Larutan asam perklorat* Larutkan 23,5 ml asam perklorat *P* dalam air dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Pereaksi* Larutkan 1,5 g 4-(*p*-nitrobenzil)piridin *P* dalam 200 ml etilen glikol *P*.

*Larutan natrium hidroksida* Larutkan 20 g natrium hidroksida *P* dalam 1000 ml etanol encer.

*Prosedur* Masukkan 1 tablet ke dalam labu tentukur dengan ukuran yang sesuai hingga kadar lebih kurang 500 µg per ml. Tambahkan air ke dalam labu hingga dua pertiga isi labu, kocok hingga tablet hancur dengan sempurna, encerkan dengan air sampai tanda, saring, buang 10 ml filtrat pertama. Masukkan dalam tabung reaksi 170 mm x 27 mm terpisah masing-masing 2,0 ml filtrat; 2,0 ml air sebagai blangko dan 2,0 ml *Larutan baku*. Pada setiap tabung tambahkan 0,7 ml *Larutan asam perklorat*, campur dan panaskan pada suhu 95° selama 10 menit. Dinginkan, tambahkan 1,0 ml natrium asetat *LP*, campur, tambahkan 1,6 ml *Pereaksi*, campur dan panaskan pada suhu 95° selama 10 menit. Dinginkan, tambahkan 8,0 ml *Larutan natrium hidroksida*, campur. Dalam waktu 4 menit, ukur serapan dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 560 nm menggunakan blangko.

Hitung jumlah dalam mg siklofosfamida,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , dalam tablet yang digunakan, dengan rumus:

$$C \left( \frac{W}{500} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar siklofosfamida anhidrat dalam µg per ml *Larutan baku*, ditentukan dari kadar *Siklofosfamida BPFi* yang telah dikoreksi terhadap kandungan air dengan cara titrimetri; *W* adalah jumlah siklofosfamida anhidrat dalam mg dalam tablet seperti tertera pada etiket;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Siklofosfamida*.

*Larutan uji* Masukkan tidak kurang dari 10 tablet ke dalam labu tentukur dengan ukuran yang sesuai hingga kadar siklofosfamida anhidrat lebih kurang 1 mg per ml. Tambahkan air hingga lebih kurang setengah isi labu, kocok selama 30 menit, encerkan dengan air sampai tanda, campur, saring dengan kertas saring, buang 40 sampai 50 ml filtrat pertama. Pipet 25 ml filtrat dan 5 ml *Larutan kesesuaian sistem* ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Siklofosfamida*. Hitung jumlah dalam mg, siklofosfamida,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , dalam tiap tablet dengan rumus:

$$2 \left( \frac{CV}{N} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar siklofosfamida anhidrat dalam mg per ml *Larutan baku*, ditetapkan dari kadar *Siklofosfamida BPFi* yang telah dikoreksi terhadap kandungan air yang ditetapkan dengan cara titrimetri; *V* adalah volume dalam ml dari labu tentukur yang digunakan untuk menampung sejumlah *N* tablet; *N* adalah jumlah tablet yang digunakan;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak siklofosfamida terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, disarankan pada suhu tidak lebih dari 25°. Walaupun tablet tahan terhadap suhu hingga 30° dalam jangka waktu pendek, sebaiknya disimpan pada suhu tidak lebih dari 30°.

## SIKLOFOSFAMIDA UNTUK INJEKSI Cyclophosphamide Pro Injection

Siklofosfamida untuk Injeksi adalah campuran steril siklofosfamida dengan atau tanpa pelarut yang sesuai. Mengandung Siklofosfamida Anhidrat,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Siklofosfamida BPF1**; tidak boleh dikeringkan, tentukan kadar air secara Titrimetri jika digunakan untuk analisis kuantitatif. Endotoksin BPF1; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>. Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu$ l larutan dalam kloroform P yang mengandung (1) zat uji (2) siklofosfamida BPF1 dengan kadar lebih kurang 20 mg per ml, jika perlu saring. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi fase gerak terdiri dari campuran kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P (75:20:5). Lakukan penampakan bercak dengan meletakkan lempeng dalam bejana iodum. Harga  $R_f$  bercak utama dari larutan (1) sesuai dengan larutan (2).

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,20 unit Endotoksin FI per mg siklofosfamida.

**pH <1071>** Antara 3,0-7,5; Lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat dengan cara seperti tertera pada Kesempurnaan Melarut <901>, ukur pH 30 menit setelah larutan dibuat

**Syarat lain Memenuhi syarat Uji Sterilitas <71>**, Keseragaman sediaan <911> dan Penandaan seperti tertera pada Injeksi.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril P (70:30), saring dan awadarkan.

**Larutan baku internal** Larutkan lebih kurang 185 mg etilparaben P dalam labu tentukur 1000-ml dengan 250 ml etanol P, encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Siklofosfamida BPF1 setara dengan lebih kurang 25 mg siklofosfamida anhidrat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan lebih kurang 25 ml air,

kocok hingga larut. Tambahkan 5,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan air sampai tanda. Larutan yang diperoleh mengandung siklofosfamida anhidrat lebih kurang 0,5 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah Siklofosfamida untuk injeksi setara dengan lebih kurang 200 mg siklofosfamida anhidrat, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan lebih kurang 50 ml air, kocok selama 5 menit, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 25 ml larutan ini dan 5 ml Larutan baku internal ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 195 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan 6 kali penyuntikan ulang Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif tidak lebih dari 2% dan faktor resolusi antara siklofosfamida dan etilparaben tidak kurang dari 2.

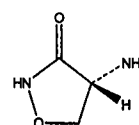
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25  $\mu$ l) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif siklofosfamida dan etilparaben berturut-turut lebih kurang 0,7 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg Siklofosfamida,  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ , dalam serbuk injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$400C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar siklofosfamida anhidrat dalam  $\mu$ g per ml Larutan baku, ditentukan dan kadar Siklofosfamida BPF1 yang telah dikoreksi terhadap kandungan air dengan cara titrimetri;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan antara respons puncak siklofosfamida terhadap etilparaben dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam Wadah untuk Padatan steril seperti tertera pada Injeksi. Disarankan suhu tidak lebih dari 25°. Walaupun tahan terhadap suhu hingga 30° untuk waktu pendek, sebaiknya disimpan pada suhu tidak lebih dari 30°.

## SIKLOSERIN Cycloserine



(+)-4-Amino-3-isoxazolidinon [68-41-7]  
 $C_3H_6N_2O_2$

BM 102,09

Sikloserin mempunyai potensi tidak kurang dari 900 µg per mg C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Baku pembanding** *Sikloserin BPHI*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai kuning pucat, tidak berbau atau berbau lemah, higroskopik dan terurai sesudah menyerap air.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air. Larutan ini memutar bidang polarisasi ke kanan.

**Identifikasi** Larutkan lebih kurang 1 mg zat dalam 10 ml *natrium hidroksida 0,1 N*. Pada 1 ml larutan tambahkan 3 ml *asam asetat 1 N* dan 1 ml campuran dengan perbandingan sama dari larutan *natrium nitroprusida P* (1 dalam 25) dan *natrium hidroksida 4 N* yang dibuat 1 jam sebelum digunakan, secara bertahap terjadi warna biru.

**Hasil kondensasi** Tidak lebih dari 0,80; lakukan penetapan serapan jenis seperti pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya* <1191> pada 285 nm, menggunakan larutan zat 0,40 mg per ml dalam *natrium hidroksida 0,1 N*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara 108°-114°; lakukan penetapan menggunakan larutan 50 mg per ml dalam *natrium hidroksida 2 N*.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 5,5 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan 1 dalam 10.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengurangan dengan pembasah 2 ml *asam nitrat P* dan 5 tetes *asam sulfat P*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar fosfat pH 6,8* Buat larutan seperti tertera pada *Larutan Dapar* pada *Pereaksi, Indikator dan Larutan*.

*Fase gerak* Timbang 500 mg *natrium 1-dekansulfonat P* larutkan dalam 800 ml air, tambahkan 50 ml *asetonitril P* dan 5 ml *asam asetat glasial P* dan campur. Atur pH hingga 4,4 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sikloserin BPHI* masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan dengan *Dapar fosfat pH 6,8* hingga kadar lebih kurang 0,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Dapar fosfat pH 6,8* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 219 nm, kolom 25 cm x 4,6 mm yang berisi bahan pengisi *L1*, dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 30° dan laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 1,8; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg sikloserin, C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dalam tiap mg zat dengan rumus:

$$50.000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sikloserin BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot zat dalam mg yang digunakan dalam *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## KAPSUL SIKLOSERIN Cycloserine Capsule

Kapsul Sikloserin mengandung Sikloserin, C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sikloserin BPHI*; lakukan pengeringan dalam hampa udara dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Kocok sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 10 mg sikloserin dengan 100 ml *natrium hidroksida 0,1 N*, saring. Pada 1 ml filtrat tambahkan 3 ml *asam asetat 1 N* dan 1 ml campuran dengan perbandingan sama dari larutan *natrium nitroprusida P* (1 dalam 25) dan *natrium hidroksida 4 N* yang dibuat 1 jam sebelum digunakan, secara bertahap terjadi warna biru.

**Disolusi <1231>**

Media disolusi: 900 ml *Daparfosfat pH 6,8*

Alat tipe 1: 100 rpm

Waktu: 30 menit

Lakukan penetapan jumlah  $C_3H_6N_2O_2$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat pH 6,8, Fase gerak dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sikloserin BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Dapar fosfat pH 6,8* hingga kadar lebih kurang 0,25 mg per ml.

*Larutan uji* Gunakan alikuot yang telah disaring.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak sikloserin. Hitung jumlah dalam mg sikloserin,  $C_3H_6N_2O_2$ , yang terlarut dengan rumus:

$$900C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sikloserin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q), sikloserin,  $C_3H_6N_2O_2$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam menggunakan lebih kurang 100 mg zat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat pH 6,8, Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sikloserin*.

*Larutan uji* Timbang tidak kurang dari 20 kapsul. Keluarkan semua isi kapsul, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 100 mg sikloserin, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Dapar fosfat pH 6,8* sampai tanda, saring.

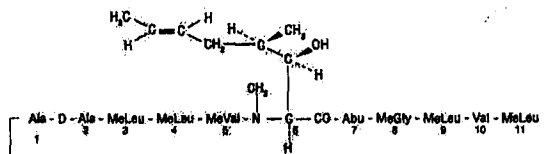
*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Sikloserin*. Hitung jumlah dalam mg sikloserin,  $C_3H_6N_2O_2$ , dalam isi kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$250 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sikloserin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**SIKLOSPORIN  
Cyclosporine**



[R-[R\*,R\*-(E)]]-Siklik(L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leusil-N-metil-L-leusil-N-metil-L-valil-3-hidroksi-N,4-dimetil-L-2-amino-6-oktenoil-L- $\alpha$ -aminobutiril-N-metilglisil-N-metil-L-leusil-L-valil-N-metil-L-leusil) [59865-13-3]

$C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$

BM 1202,61

Siklosporin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5%  $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$  dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Larut dalam aseton, dalam etanol, dalam metanol, dalam eter, dalam kloroform dan dalam diklorometan; sukar larut dalam hidrokarbon jenuh; praktis tidak larut dalam air.

**Baku pembanding** *Siklosporin BPFi*; Lakukan pengeringan pada botol bersumbat kapiler dalam hampa udara dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan pada wadah tertutup rapat tidak tembus cahaya dan di tempat dingin. Jika dalam perhitungan memerlukan faktor kemurnian gunakan =1000. *Campuran Resolusi Siklosporin BPFi*; merupakan siklosporin dan siklosporin U (100:1). Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan pada wadah tertutup rapat tidak tembus cahaya dan di tempat dingin.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg zat.

**Logam berat <371>** *Metode III* Tidak lebih dari 20 bji.

Senyawa sejenis Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,7 %; dan total cemaran tidak lebih dari 1,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Pengencer, Larutan baku 1, Larutan baku 2, Larutan uji, Larutan resolusi, Sistem kromatografi dan Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* menggunakan kromatogram *Larutan baku 2 dan Larutan uji pada Penetapan kadar*. Hitung persentase masing-masing cemaran dengan rumus:

$$2000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_{s2}} \right)$$

*C* adalah kadar *Siklosporin BPF1*, dalam mg per ml *Larutan baku 2*; *W* adalah bobot dalam mg siklosporin yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji* dan *r<sub>s2</sub>* adalah respons puncak siklosporin dari *Larutan baku 2*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril *P-tert-butilmetileter P-asam fosfat P* (520:430:50:1). Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Buat campuran *asetonitril P-air* (1:1).

*Larutan baku 1* Timbang saksama sejumlah *Siklosporin BPF1*, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 1,25 mg per ml.

*Larutan baku 2* Pipet 2 ml *Larutan baku 1* ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *Pengencer P* sampai tanda. Larutan ini mengandung *Siklosporin BPF1* lebih kurang 0,01 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 20-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Campuran Resolusi Siklosporin BPF1* larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 1,25 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm, kolom baja tahan karat 1 m x 0,25 mm yang dihubungkan dengan prakolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3 - 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 80°. Laju alir lebih kurang 1,2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: puncak siklosporin U dan puncak utama siklosporin dapat dibedakan satu sama lain. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku 1*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%. Lakukan kromatografi

terhadap *Larutan baku 2*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku 1, Larutan baku 2 dan Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase siklosporin A, C<sub>62</sub>H<sub>111</sub>N<sub>11</sub>O<sub>12</sub>, dalam zat dengan rumus:

$$\left( \frac{CP}{10U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Siklosporin BPF1*, dalam mg per ml *Larutan baku 1*; *P* adalah kemurnian *Siklosporin BPF1* dalam µg per mg; *U* adalah kadar siklosporin dalam mg per ml *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak siklosporin dari *Larutan uji dan Larutan baku 1*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## LARUTAN ORAL SIKLOSPORIN Cyclosporine Oral Solution

Larutan Oral Siklosporin adalah larutan siklosporin dalam campuran yang sesuai. Mengandung Siklosporin, C<sub>62</sub>H<sub>111</sub>N<sub>11</sub>O<sub>12</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Siklosporin BPF1*; Lakukan pengeringan pada botol bersumbat kapiler dalam hampa udara dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan pada wadah tertutup rapat tidak tembus cahaya dan di tempat dingin. Jika dalam perhitungan memerlukan faktor kemurnian gunakan *P* = 1000.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak 1* Gunakan *etil eter P*.

*Fase gerak 2* Campuran *etil asetat P-metil etil keton P-air-asam format P* (60:40:2:1).

*Larutan A* Timbang 340 mg *bismut subnitrat P*, larutkan dalam 20 ml larutan *asam asetat P 20%*.

*Larutan B* Timbang 8 g *kalium iodida P*, larutkan dalam 20 ml air.

*Penampak bercak* Campuran 5 ml *Larutan A*, 5 ml *Larutan B* dan 20 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan air hingga 100 ml. Buat segar.

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Siklosporin BPF1*, larutkan dan encerkan dengan campuran *metanol P-kloroform P* (4:1) hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan uji* Pipet sejumlah larutan dan encerkan dengan campuran *metanol P-kloroform P* (4:1) hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak 1*, hingga *Fase gerak 1* merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan keringkan. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak 2*, hingga *Fase gerak 2* merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan keringkan. Semprot lempeng dengan Penampak bercak. Segera semprot lagi dengan *hidrogen peroksida LP*. Bercak siklosporin berwarna cokelat dengan harga  $R_f$  lebih kurang 0,45. Warna dan harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat. Untuk larutan oral yang dikemas dalam wadah dosis tunggal.

**Volume berpindah <1261>** Memenuhi syarat. Untuk larutan oral yang dikemas dalam wadah dosis ganda.

**Etanol** (jika tertera pada etiket) Antara 80,0% dan 120,0% dari jumlah  $C_2H_5OH$  yang tertera pada etiket. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku internal, Sistem kromatografi dan Kesesuaian sistem* Lakukan seperti tertera pada uji Etanol dalam *Larutan Pekat Siklosporin untuk Injeksi*.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 2,5 g *etanol mutlak P*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *butanol P* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 5 ml *Larutan baku persediaan* dan 6 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *butanol P* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah larutan setara dengan lebih kurang 250 mg  $C_2H_5OH$ , masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 6,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *butanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada uji *Etanol* dalam *Larutan Pekat Siklosporin untuk Injeksi*. Hitung jumlah dalam mg etano,  $C_2H_5OH$ , dalam larutan yang digunakan dengan rumus:

$$25 C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

$C$  adalah kadar  $C_2H_5OH$  dalam mg per ml *Larutan baku*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak  $C_2H_5OH$  terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Larutan Pekat Siklosporin untuk Injeksi*.

*Pelarut* Buat campuran *metanol P-kloroform P* (4:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Siklosporin BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Gunakan larutan segera setelah pembuatan.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume larutan, encerkan dengan *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Gunakan larutan segera setelah pembuatan.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Larutan Pekat Siklosporin untuk Injeksi*. Pertahankan suhu kolom pada 50°.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg siklosporin,  $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ , dalam tiap ml larutan dengan rumus:

$$\left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{CP}{1000} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$L$  adalah jumlah siklosporin dalam mg per ml larutan oral, seperti tertera pada etiket;  $D$  adalah kadar siklosporin dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket dan pengenceran;  $C$  adalah kadar *Siklosporin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $P$  adalah kemurnian *Siklosporin BPFi* dalam µg per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## LARUTAN PEKAT SIKLOSPORIN UNTUK INJEKSI

### Cyclosporine Concentrate for Injection

Siklosporin Pekat untuk Injeksi adalah larutan steril siklosporin dalam campuran *etanol P* dan minyak nabati yang sesuai. Mengandung Siklosporin,  $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Siklosporin BPFi*, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Endotoksin BPFi*, [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>. Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl larutan dalam *metanol P* yang mengandung (1) zat uji 0,5 mg per ml dan (2) *Siklosporin BPF1* 0,5 mg per ml, pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Biarkan bercak mengering pada udara mengalir, masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak *etil eter P* hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng, angkat lempeng beri tanda batas fase gerak, biarkan mengering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi kedua yang telah dijenuhkan dengan fase gerak campuran *etil asetat P-metil etil keton P-air-asam format P* (60:40:2:1) dan biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap. Semprot lempeng dengan larutan segar yang terdiri dari campuran 5 ml *Larutan A* (340 mg *bismut subnitrat P* dalam 20 ml asam asetat P 20%), 5 ml *Larutan B* (8 g *kalium iodida P* dalam 20 ml air), 20 ml *asam asetat glasial P* dan air hingga 100 ml. Semprot segera lempeng dengan *hidrogen peroksida LP*. Pada kromatogram, siklosporin tampak sebagai bercak coklat dengan harga  $R_f$  lebih kurang 0,45; harga  $R_f$  bercak utama dari larutan (1) sesuai dengan bercak utama dari larutan (2).

B. Kromatogram dari *Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar* menunjukkan puncak utama siklosporin dengan waktu retensi sesuai dengan kromatogram dari *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,84 unit Endotoksin FI per mg Siklosporin; lakukan penetapan menggunakan larutan uji yang dibuat sebagai berikut: Buat pengenceran zat uji (1:1) dengan *Air untuk Injeksi*. Pada 0,1 ml suspensi tersebut tambahkan 0,1 ml pereaksi LAL terkonstitusi di dalam tabung uji pirogen yang sesuai, kemudian kocok menggunakan pengocok vortex selama lebih kurang 5 detik.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**Etanol** Antara 80,0%-120,0% dari jumlah  $C_2H_5OH$  yang tertera pada etiket. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku internal* Campur 3 ml *n-propanol P* dan 50 ml *butanol P*.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 1,6 g *etanol mutlak P*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *butanol P* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 5,0 ml *Larutan baku persediaan* dan 6,0 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *butanol P* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat setara dengan lebih kurang 320 mg  $C_2H_5OH$ , masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 6,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *butanol P* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 2 m x 2 mm berisi partikel penyangga S3. Pertahakan suhu injektor lebih kurang 280°, suhu detektor lebih kurang 290° dan suhu kolom pada 145° selama 8 menit, kemudian atur kenaikan suhu hingga 270° dengan kecepatan 32° per menit. Gunakan *nitrogen P* sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 35 ml per menit. [Catatan jika perlu lakukan penyesuaian untuk mendapatkan hasil kromatografi yang memuaskan.]

**Kesesuaian sistem** Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Urutan eluasi adalah etanol, *n-propanol* dan *butanol*. Hitung jumlah dalam mg siklosporin,  $C_2H_5OH$ , dalam larutan pekat siklosporin untuk injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$25 C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

$C$  adalah kadar  $C_2H_5OH$ , dalam mg per ml *Larutan baku*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak etanol terhadap *n-propanol* dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak** Buat campuran *asetonitril P-air-metanol P-asam fosfat P* (550:400:50:0,5), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Siklosporin BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml. Gunakan larutan ini segera setelah pembuatan.

*Larutan uji* (1) *Prosedur ini berlaku untuk sediaan dosis tunggal*. Pindahkan semua larutan dalam wadah menggunakan jarum hipodermis yang sesuai, encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml. Gunakan larutan ini setelah pembuatan.

*Larutan uji* (2) *Prosedur ini berlaku bila pada etiket tertera jumlah siklosporin dalam satuan volume injeksi*, encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg siklosporin per ml. Gunakan larutan ini segera setelah pembuatan.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi

dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L16. Pertahankan suhu kolom pada 70° dan laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas,  $k'$ , tidak kurang dari 3 dan tidak lebih dari 10, efisiensi kolom ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 700 lempeng teoritis, faktor ikutan untuk puncak analit tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*(1) atau *Larutan uji* (2) ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg siklosporin,  $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ , dalam tiap wadah atau dalam tiap ml larutan pekat siklosporin untuk injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{L}{D}\right)\left(\frac{CP}{1000}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

$L$  adalah jumlah siklosporin yang tertera pada etiket dalam mg, dalam wadah atau dalam tiap ml larutan pekat siklosporin untuk injeksi;  $D$  adalah kadar siklosporin mg per ml *Larutan uji* (1) atau *Larutan uji* (2); berdasarkan masing-masing jumlah yang tertera pada etiket;  $C$  adalah kadar *Siklosporin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $P$  adalah kemurnian *Siklosporin BPFi* dalam µg per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* (1) atau *Larutan uji* (2) dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda.

**Penandaan** Pada etiket harus tertera bahwa larutan harus diencerkan dengan pelarut parenteral yang sesuai sebelum digunakan sebagai larutan infus intravena.

## TETES HIDUNG SILOMETAZOLIN HIDROKLORIDA

### Xylometazoline Hydrochloride Nasal Solution

Tetes Hidung Silometazolin Hidroklorida adalah larutan isotonik Silometazolin Hidroklorida dalam air. Mengandung Silometazolin Hidroklorida,  $C_{16}H_{24}N_2$ . HCl, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Silometazolin Hidroklorida BPFi*, lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Campuran kloroform *P-metanol P-isopropilamina P* (92:3:3).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Silometazolin Hidroklorida BPFi* dan larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml, dan lakukan seperti tertera pada *Larutan uji*.

*Larutan uji* Masukkan 10 ml larutan ke dalam corong pisah, tambahkan 2 ml larutan *natrium karbonat P* (1 dalam 10), dan ekstraksi dengan 10 ml *kloroform P*, saring ekstrak melalui *natrium sulfat anhidrat P*. Uapkan ekstrak kloroform di atas tangas uap sampai kering, dan larutkan residu dalam 1 ml campuran *kloroform P-metanol P* (1:1).

*Prosedur* Totolkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi campuran *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan *Fase gerak* menguap. Semprot lempeng dengan larutan *p-nitrobenzediazonium tetrafluoroborat*, yang dibuat dengan menambahkan 250 mg *p-nitrobenzediazonium tetrafluoroborat P* ke dalam 5 ml air, kocok dan saring. Semprot lempeng dengan larutan *natrium karbonat P* (1 dalam 10); harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

pH <1071> Antara 5,0 dan 7,5.

### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Silometazolin Hidroklorida BPFi* larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml. Pipet 10 ml larutan ke dalam corong pisah 125 ml dan lakukan seperti tertera pada *Larutan uji*, dimulai dari "tambahkan berturut-turut 10 ml air dan 10 ml asam klorida encer (1 dalam 6)". Kadar *Silometazolin Hidroklorida BPFi* dalam *Larutan baku* lebih kurang 100 µg per ml.

*Larutan uji* Pipet sejumlah volume larutan setara dengan lebih kurang 5 mg silometazolin hidroklorida, masukkan ke dalam corong pisah 125 ml, tambahkan berturut-turut 10 ml air dan 10 ml asam klorida encer (1 dalam 6), dan ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 10 ml *metilen klorida P*. Ambil ekstrak metilen klorida, tambahkan 10 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 5) ke dalam corong pisah dan ekstraksi tiga kali, tiap kali menggunakan 15 ml *metilen klorida P*. Saring kumpulan ekstrak melalui wol kaca ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *metilen klorida P* sampai tanda.

*Prosedur* Pipet 5 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji*, masing masing ke dalam labu tentukur 10-ml, uapkan di atas tangas air bersuhu 40°, dengan bantuan aliran gas *nitrogen P* sampai kering. Larutkan residu dalam masing-masing labu dengan 0,5 ml *etanol mutlak P*, dan masukkan 0,5 ml *etanol mutlak P* ke dalam labu tentukur 10-ml ketiga sebagai blangko. Ke dalam masing-masing labu tambahkan 0,5 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 25), campur, tambahkan masing-masing 5,0 ml larutan *natrium nitroferisianida P* (1 dalam 200), kocok. Setelah tepat 10 menit, tambahkan 1,0 ml larutan



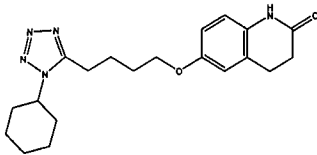
natrium bikarbonat P jenuh ke dalam masing-masing labu, goyang dan Biarkan 10 menit. Encerkan masing-masing dengan air sampai tanda, kocok dan Biarkan 15 menit. Ukur serapan larutan menggunakan kuvet 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 565 nm. Hitung jumlah dalam mg silometazolin hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>.HCl, dalam tetes hidung yang digunakan dengan rumus:

$$0,05\left(\frac{C}{V}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

C adalah kadar Silometazolin Hidroklorida BPF1 dalam µg per ml Larutan baku; V adalah volume dalam ml tetes hidung yang digunakan; A<sub>U</sub> dan A<sub>S</sub> berturut-turut adalah serapan Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**SILOSTAZOL**  
**Cilostazol**



6-[4-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-il)butoksi]-3,4-dihidrokarbostiril [73963-72-1]  
C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> BM 369,46

Silostazol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam kloroform; agak sukar larut dalam metanol dan dalam etanol; praktis tidak larut dalam air.

**Baku pembanding** Silostazol BPF1; Senyawa Sejenis A Silostazol BPF1; Senyawa Sejenis B Silostazol BPF1; Senyawa Sejenis C Silostazol BPF1.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Silostazol BPF1.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,25%; lakukan pengeringan pada suhu 110° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 0,018%.

*Larutan uji* Larutkan 500 mg zat dalam 40 ml dimetilformamida P tambahkan 6 ml asam nitrat encer P, tambahkan dimetilformamida P hingga 50 ml.

*Larutan pembanding* Tambahkan 6 ml asam nitrat encer P ke dalam 0,25 ml asam klorida 0,01 N, tambahkan dimetilformamida P hingga 50 ml.

*Prosedur* Tambahkan 1 ml perak nitrat LP ke dalam Larutan uji dan Larutan pembanding, campur dan biarkan selama 5 menit, lindungi dari cahaya langsung. Bandingkan kekeruhan yang terjadi pada kedua tabung yang diamati baik secara vertikal atau horizontal dengan latar belakang hitam; kekeruhan Larutan uji tidak lebih intensif dari Larutan pembanding (0,018%).

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 10 bpj.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada Tabel. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Pengencer, Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, dan Sistem kromatografi* lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Silostazol BPF1 dan Senyawa Sejenis C Silostazol BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dalam asetonitril P hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,5 mg per ml, jika perlu sonikasi. Pipet 4 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml, dan encerkan dengan air sampai tanda. Kemudian encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan Pengencer hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,4 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dengan 20 ml asetonitril P, jika perlu sonikasi. Encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase senyawa sejenis C silostazol dengan rumus:

$$0,1\left(\frac{C_S}{C_U}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

C<sub>S</sub> adalah kadar Senyawa Sejenis C Silostazol BPF1 dalam µg per ml Larutan baku; C<sub>U</sub> adalah kadar silostazol dalam mg per ml Larutan uji; r<sub>U</sub> adalah respons puncak senyawa sejenis C silostazol dalam Larutan uji; r<sub>S</sub> adalah respons puncak senyawa sejenis C silostazol dalam Larutan baku. Hitung persentase cemaran lain dengan rumus:

$$0,1 \left( \frac{1}{F} \right) \left( \frac{C_S}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*F* adalah faktor respons relatif dari Tabel; *C<sub>S</sub>* adalah kadar silostazol dalam µg per ml Larutan baku; *C<sub>U</sub>* adalah kadar silostazol dalam mg per ml Larutan uji; *r<sub>U</sub>* adalah respons puncak cemaran lain dalam Larutan uji; *r<sub>S</sub>* adalah respons puncak silostazol dalam Larutan baku.

Tabel

Nama	Waktu retensi relatif	Faktor respons relatif	Batas (%)
Senyawa sejenis silostazol A	0,2	1,7	0,1
Senyawa sejenis silostazol B	0,9	0,58	0,1
Silostazol	1,0	1,0	-
Senyawa sejenis silostazol C	1,9	-	0,1
Cemaran lain	-	1,0	0,1
Total cemaran	-	-	0,4

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer** Buat campuran air-asetonitril P (60:40).

**Larutan A** Buat campuran air-asetonitril P (70:30), saring dan awaudarakan.

**Larutan B** Buat campuran air-asetonitril P (50:50), saring dan awaudarakan.

**Fase gerak** Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada Sistem kromatografi. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan kesesuaian sistem** Larutkan sejumlah Silostazol BPF1, Senyawa Sejenis A Silostazol BPF1, Senyawa Sejenis B Silostazol BPF1 dalam Pengencer hingga kadar masing-masing 0,05 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Silostazol BPF1, larutkan dalam asetonitril P jika perlu sonikasi hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml. Pipet 4 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml dan encerkan dengan air sampai tanda. Kemudian encerkan dengan Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,04 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam 20 ml asetonitril P, jika perlu sonikasi, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 10 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 3,5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada 40°. Kromatograf diprogram sebagai berikut :

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-6,5	100→50	0→50	gradien linier
6,5-10	50→0	50→100	gradien linier
10-20	0	100	isokratik
20-20,1	0→100	100→0	gradien linier
20,1-28	100	0	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, tentukan zat-zat pada Tabel, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, *R*, antara puncak silostazol dan senyawa sejenis B silostazol, tidak kurang dari 3,0; faktor ikutan puncak silostazol tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg silostazol, C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$500C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Silostazol BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah tertutup rapat, pada suhu ruang.

### TABLET SILOSTAZOL Cilostazol Tablet

Tablet Silostazol mengandung Silostazol, C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Silostazol BPF1.**

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah Larutan uji menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Larutan baku.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Silostazol BPF1 larutkan dalam kloroform P hingga kadar lebih kurang 100 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan 100 mg silostazol, masukkan ke dalam wadah kaca. Tambahkan 1 ml kloroform P, aduk selama 1 menit dan saring melalui penyaring dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril *P-metanol P* (10:7:3), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku internal** Buat larutan benzofenon dalam *metanol P* hingga kadar larutan lebih kurang 4 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Silostazol BPFi*, larutkan dalam *metanol P* dan tambahkan sejumlah volume *Larutan baku internal*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar *Silostazol BPFi* dan baku internal berturut-turut lebih kurang 0,1 dan 0,04 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 50 mg silostazol, pindahkan ke dalam labu tentukur yang sesuai dan tambahkan sejumlah volume *Larutan baku internal*. Encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar silostazol dan baku internal berturut-turut lebih kurang 0,1 dan 0,04 mg per ml. Saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,5 µm atau lebih kecil.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak silostazol dan benzofenon tidak kurang dari 9,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase, silostazol,  $C_{20}H_{27}N_5O_2$ , dalam tablet berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket dengan rumus:

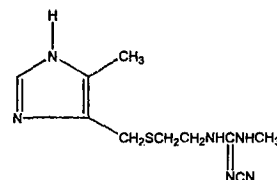
$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Silostazol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_u$  adalah kadar silostazol dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan jumlah silostazol per tablet dan faktor pengenceran;  $R_u$  dan  $R_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya. Simpan pada suhu ruang.

## SIMETIDIN

### Cimetidine



2-Siano-1-metil-3-[2-[[5-metilimidazol-4-il)metil]tio]etil]guanidin [51481-61-9]

$C_{10}H_{16}N_6S$

BM 252,34

Simetidin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{10}H_{16}N_6S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai hampir putih; tidak berbau atau bau merkaptan lemah.

**Kelarutan** Larut dalam etanol, dalam polietilen glikol 400; mudah larut dalam metanol; agak sukar larut dalam air dan dalam kloroform, praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembandingan** *Simetidin BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 110° selama 2 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Simetidin BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 80.000) dalam *asam sulfat 0,1 N* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Simetidin BPFi*.

**Jarak lebur <1021>** Antara 139° dan 144°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 110° selama 2 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,2%.

**Logam berat <371>** *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,2%; total cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran 240 ml *metanol P*; 0,3 ml *asam fosfat P* 85%; 940 mg *natrium 1-heksansulfonat P* dan air secukupnya hingga 1000 ml, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Simetidin BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,80 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dalam lebih kurang 50 ml *Fase gerak* dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Campur, sonikasi selama 15 menit.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *LI*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas, *k'*, tidak kurang dari 3,0; efisiensi kolom tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis, dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{0,001 C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*C<sub>s</sub>* adalah kadar *Simetidin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; 0,001 adalah faktor perkalian untuk konversi µg per ml menjadi mg per ml; *C<sub>u</sub>* adalah kadar simetidin dalam mg per ml *Larutan uji*; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji*; *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak simetidin dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Masukkan 200 ml *metanol P* dan 0,3 ml *asam fosfat P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air sampai tanda, campur, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Simetidin BPFi*, larutkan dalam campuran air dan *metanol P* (4:1) hingga kadar lebih kurang 0,4 mg per ml, diawali dengan melarutkan baku pembanding dalam 1 bagian *metanol P*, dan encerkan dengan 4 bagian air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 200-ml encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml. Larutkan dalam 50 ml *metanol P*, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *LI*. Laju alir lebih kurang

2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas, *k'*, tidak kurang dari 0,6; efisiensi kolom ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 1000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam mg simetidin, *C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S*, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$10C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Simetidin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET SIMETIDIN Cimetidine Tablet

Tablet Simetidin mengandung simetidin, *C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S*, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Simetidin BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 110° selama 2 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml *asam klorida 0,01 N*.

*Alat tipe1*: 100 rpm. Untuk tablet 800 mg gunakan keranjang dengan ukuran 20 mesh.

*Waktu*: 15 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah *C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S*, yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Simetidin BPFi* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 218 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 15 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q), simetidin, *C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S*, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Simetidin*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet, setara dengan lebih kurang 100 mg simetidin, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml. Tambahkan 50 ml *metanol P*, kocok selama 2 menit, tambahkan 40 ml air, sonikasi selama 15 menit, encerkan dengan air sampai tanda. Pindahkan 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg simetidin, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

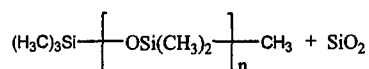
$$10C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Simetidin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*, r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, Pada suhu ruang terkendali.

## SIMETIKON

### Simethicone



*α-(Trimetilsilil)-ω-metilpoli [oksi(dimetilsililen)], campuran dengan silikon dioksida [8050-81-5]*

Simetikon adalah campuran polimer siloksan linier yang termetilasi penuh, mengandung ulangan unit  $[-(CH_3)_2SiO-]_n$ , distabilkan dengan unit pemblok akhir trimetilsiloksil dengan rumus  $[(CH_3)_3SiO-]$  dan silikon dioksida. Mengandung tidak kurang dari 90,5% dan tidak lebih dari 99,0% polidimetilsiloksan,  $[-(CH_3)_2SiO-]_n$ , dan tidak kurang dari 4,0% dan tidak lebih dari 7,0% silikon dioksida, SiO<sub>2</sub>.

**Pemerian** Cairan kental, tembus cahaya, warna abu-abu.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air, dan dalam etanol, fase cair larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen, tetapi silikon dioksida tertinggal sebagai sisa dalam pelarut-pelarut itu.

**Baku pembanding** *Polidimetilsiloksan BPFi*; wadah harus selalu tertutup rapat; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah *Larutan uji* yang dibuat seperti tertera pada *Penetapan kadar*, dalam sel 0,5 mm, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Larutan baku*.

**Susut pemanasan** Tidak lebih dari 18,0%; lakukan pemanasan dalam wadah terbuka bergaris tengah 5,5 cm +0,5 cm, tinggi 2,5 cm +1,0 cm, yang telah ditara, pada suhu 200° selama 4 jam di dalam oven dengan sirkulasi udara dan biarkan dalam desikator hingga suhu kamar sebelum ditimbang, menggunakan 15 g zat yang ditimbang saksama.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Aktivitas penghilang busa** Tidak lebih dari 15 detik.

*Larutan busa* Larutkan 1 g *oktosinol 9 P* dalam 100 ml air.

*Larutan uji* Masukkan 200 mg ke dalam botol 60 ml, tambahkan 50 ml *butil alkohol tersier P*, tutup botol, kocok kuat [Catatan Jika perlu hangatkan untuk memudahkan pelarutan.]

*Prosedur* [Catatan Untuk setiap pengujian gunakan wadah kaca 250 ml yang bersih, dan belum dipakai.] Tambahkan tetes demi tetes 500 ml *Larutan uji* ke dalam wadah kaca 250 ml bersih, belum dipakai, dilengkapi dengan tutup 500 mm yang berisi 100 ml *Larutan baku*. Tutup wadah, jepit dengan posisi tegak pada pengocok, kocok selama 10 detik pada frekuensi 300+30 kocokan per menit. Catat waktu yang diperlukan sampai busa reda. Waktu dalam detik untuk busa mereda, ditentukan pada saat timbul permukaan cairan bebas busa, diukur dari akhir waktu pengocokan.

### Kandungan silikon dioksida

*Larutan uji* Masukkan 3,00 g simetikon ke dalam botol 10 ml bertutup ulir, tambahkan 10,0 ml larutan *n-heksan P* (1 dalam 100), tutup dan kocok kuat.

*Larutan baku* Masukkan 3,00 g *Simetikon BPFi*, lakukan seperti pada *Larutan uji*.

*Larutan dimetikon* Masukkan 3,00 g dimetikon dengan kekentalan 500 sentistokes, lakukan seperti pada *Larutan uji*.

*Prosedur* Campur dengan baik *Larutan uji, Larutan baku* dan *Larutan dimetikon*, ukur serapan campuran tersebut dalam sel 0,1 mm dengan Spektrofotometer inframerah pada panjang gelombang antara 7 dan 9 µm, menggunakan *n-heksan P* sebagai blangko. Ukur serapan masing-masing ketiga larutan pada panjang gelombang minimum 8,2 µm yang diperoleh dari pengukuran *Larutan dimetikon*. Hitung persentase silikon dioksida dalam simetikon dengan rumus:

$$C \left( \frac{A_U - A_D}{A_S - A_D} \right)$$

C adalah persentase silikon dioksida dalam *Simetikon BPF1*;  $A_U$ ,  $A_D$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji*, *Larutan dimetikon* dan *Larutan baku*.

#### Penetapan kadar

*Larutan baku* Buat dengan cara yang sama, menggunakan 25,0 ml larutan *Polidimetilsiloksan BPF1* dalam *toluen P* dengan kadar lebih kurang 2 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam botol bulat 120 ml, bertutup ulir. Tambahkan 25,0 ml *toluen P*, dan kocok hingga terdispersi. Tambahkan 50 ml larutan *asam klorida P* (2 dalam 5), tutup botol rapat-rapat dengan tutup berlapis inert, kocok 5 menit tepat, pada pengocok resiprokal dengan kecepatan yang sesuai, lebih kurang 200 goyangan per menit dan hampasan  $38 \pm 2$  mm. Masukkan campuran ke dalam corong pisah 125 ml, pindahkan lebih kurang 5 ml lapisan organik bagian atas (*toluen*) ke dalam tabung reaksi 15 ml bertutup putar yang berisi 500 mg *natrium sulfat anhidrat P*. Tutup labu, goyang kuat-kuat dan sentrifus campuran sampai diperoleh beningan yang jernih.

*Larutan blangko* Buat campuran 10 ml *toluen P* dengan 500 mg *natrium sulfat anhidrat P*, sentrifus sampai diperoleh beningan yang jernih.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* dalam sel 0,5 mm pada serapan maksimum lebih kurang 7,9  $\mu\text{m}$  dengan spektrofotometer inframerah yang sesuai, menggunakan *Larutan blangko* untuk mempersiapkan alat. Hitung jumlah dalam mg *simetikon*,  $[-(\text{CH}_3)_2\text{SiO-}]_n$ , dalam zat yang di gunakan dengan rumus:

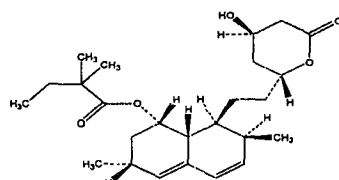
$$25C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Polidimetilsiloksan BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SIMVASTATIN

### Simvastatine



Asam 2,2-dimetilbutirat, 8 ester dengan (4R,6R)-6-2-[(1S,2S,6R,8S,8 $\alpha$ R)-1,2,6,7,8,8a-heksahidro-8-hidroksi-2,6-dimetil-1-naftil]etil] tetrahidro-4-hidroksi-2H-piran-2-on. [79902-63-9]

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$

BM 418,57

Simvastatin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$  dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Dapat mengandung anti oksidan yang sesuai.

**Pemerian** Serbuk; putih sampai hampir putih.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam kloroform, metanol dan etanol; agak sukar larut dalam propilen glikol; sangat sukar larut dalam n-heksan.

**Baku pembanding** *Simvastatin BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pembeku. *Lovastatin BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, dalam lemari pembeku dengan aliran nitrogen.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah di keringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Simvastatin BPF1*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh dari *Penetapan kadar*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara  $+285^\circ$  dan  $+298^\circ$ .

Lakukan penetapan menggunakan larutan 5 mg per ml dalam *asetonitril P*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada  $60^\circ$  selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Tiap cemaran selain lovastatin dan epilovastatin tidak lebih dari 0,4%, total cemaran selain lovastatin dan epilovastatin tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. [Catatan *Larutan simvastatin stabil selama 3 hari jika disimpan pada suhu  $4^\circ$ . Tanpa pendinginan, suntikkan segera setelah dibuat.*]

*Fase gerak*, *Pengencer*, *Larutan uji* dan *Sistem kromatografi* lakukan seperti pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 5  $\mu\text{l}$  *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam *simvastatin* yang digunakan, dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah luas puncak masing-masing cemaran dan  $r_s$  adalah jumlah seluruh luas puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Larutan simvastatin stabil selama 3 hari jika disimpan pada suhu 4°. Tanpa pendinginan, suntikkan segera setelah dibuat.]

*Asam fosfat encer* Masukkan 1 ml asam fosfat P ke dalam labu tentukur 1000-ml dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan A* Buat campuran asetonitril P dan asam fosfat encer P (50:50).

*Larutan B* Masukkan 1 ml asam fosfat P ke dalam labu tentukur 1000-ml dan encerkan dengan asetonitril P sampai tanda.

*Fase gerak* Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar* Buat larutan yang mengandung kalium fosfat monobasa P 1,4 g per 1000 ml, atur pH dengan asam fosfat P sampai pH 4,0.

*Pengencer* Buat campuran asetonitril P-Dapar (3:2).

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah Simvastatin BPF1 dan Lovastatin BPF1, larutkan dan encerkan dengan Pengencer, hingga diperoleh larutan dengan kadar Simvastatin BPF1 1,5 mg per ml dan Lovastatin BPF1 0,015 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Simvastatin BPF1, larutkan dan encerkan dengan Pengencer hingga diperoleh kadar kurang lebih 1,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 75 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 33 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 3,0 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0 - 4,5	100	0	isokratik
4,5 - 4,6	100 → 95	0 → 5	gradien linier
4,6 - 8,0	95 → 25	5 → 75	gradien linier
8,0 - 11,5	25	75	isokratik
11,5 - 11;6	25 → 100	75 → 0	gradien linier
11,6 - 13	100	0	kesetimbangan kembali

Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif lovastatin, simvastatin, berturut-turut lebih kurang 0,60 dan 1,0; resolusi,  $R$ , antara simvastatin dan lovastatin lebih besar dari 3. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons

puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg simvastatin,  $C_{25}H_{38}O_5$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$VC \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$V$  adalah volume dalam ml Larutan uji,  $C$  adalah kadar Simvastatin BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, simpan pada suhu antara 15° dan 30° atau dalam lemari pendingin.

## TABLET SIMVASTATIN

### Simvastatine Tablet

Tablet Simvastatin mengandung simvastatin,  $C_{25}H_{38}O_5$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Simvastatin BPF1**; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam lemari pembeku.

**Identifikasi Waktu retensi puncak utama Larutan uji** sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

### Disolusi <1231>

*Dapar pH 7,0* Larutkan 30 g natrium dodesil sulfat P dan natrium fosfat 0,01 M yang dibuat dengan melarutkan 30 g natrium dodesil sulfat P dan 8,28 g natrium fosfat monobasa P dalam 6000 ml air. Atur pH hingga 7,0 dengan penambahan larutan natrium hidroksida 50% (b/v).

*Media disolusi* : 900 ml *Dapar pH 7,0*.

*Alat tipe 2* : 50 rpm.

*Waktu* : 30 menit.

*Mangan dioksida yang telah dicuci* Masukkan 10 g mangan dioksida P ke dalam wadah yang sesuai. Tambahkan 50 ml *Media disolusi*, kocok kuat selama 5 menit. Sentrifus dan tuang beningan dan buang. Ulangi dua kali, pertama dengan *Media disolusi*, kemudian dengan air. Keringkan padatan pada suhu 100° selama 1 jam sebelum digunakan.

*Larutan uji* Masukkan aliquot ke dalam tabung sentrifuga yang berisi mangan dioksida yang telah dicuci lebih kurang 10 mg per ml, dan campur. Biarkan campuran selama 30 menit sambil sekali-sekali dikocok, sentrifus dan gunakan beningan.

*Blangko* Lakukan seperti tertera pada *Larutan uji*, menggunakan *Media disolusi*.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{25}H_{38}O_5$  yang terlarut dengan mengukur serapan *Larutan uji*, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan larutan baku *Simvastatin BPF1* dalam media yang sama, berturut-turut pada panjang gelombang serapan maksimum dan minimum lebih kurang 247 nm dan 257 nm. Lakukan koreksi menggunakan blangko.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q) simvastatin,  $C_{25}H_{38}O_5$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer* Tambahkan 3,0 ml asam asetat glasial P pada 900 ml air. Atur pH hingga 4,0 dengan penambahan natrium hidroksida 5 N. Encerkan dengan air hingga 1000 ml. Pada 200 ml larutan ini, tambahkan 800 ml asetonitril P, dan campur.

*Dapar* Larutkan 3,9 g natrium fosfat monobasa P dalam 900 ml air. Jika perlu atur pH hingga 4,5 dengan penambahan natrium hidroksida P 50% atau asam fosfat 85% encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran asetonitril P-Dapar (65:35), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Simvastatin BPF1*, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer*, hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Masukkan 10 tablet ke dalam labu tentukur 250-ml. Tambahkan sedikit air (tidak lebih dari 10 ml), aduk hingga tablet hancur. Encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda, sonikasi selama 15 menit, dinginkan hingga suhu ruang. Jika perlu encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Sentrifus campuran, encerkan cairan beningan dengan *Pengencer* hingga kadar simvastatin lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 238 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dan pertahankan suhu kolom pada 45°. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor kapasitas,  $k'$ , tidak kurang dari 3,0; efisiensi kolom tidak kurang dari 4500 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

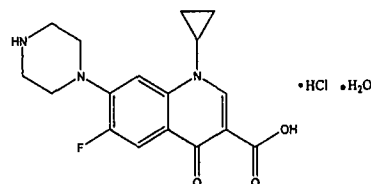
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg simvastatin,  $C_{25}H_{38}O_5$ , dalam tiap tablet dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Simvastatin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; L adalah jumlah simvastatin dalam mg per tablet, yang tertera pada etiket; D adalah kadar simvastatin dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak simvastatin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat

## SIPROFLOKSASIN HIDROKLORIDA Ciprofloxacin Hydrochloride



Asam 1-siklopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-okso-7-(1-piperazinil)-3-kuinolin-karboksilat, mono-hidroklorida, monohidrat [86393-32-0]  
 $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl \cdot H_2O$  BM 385,82

Siprofloksasin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Baku pembanding** *Siprofloksasin Hidroklorida BPF1*, adalah bentuk monohidrat dari siprofloksasin hidroklorida, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Tetapkan kandungan air secara titrimetri pada saat akan digunakan analisa kuantitatif. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Siprofloksasin Etilendiamina Analog BPF1* {asam [1-siklopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-okso-7-(2-aminoetil) amino]-3-kuinolin-karboksilat hidroklorida}; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Asam fluorokuinolonat BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti *Siprofloksasin BPF1*.



B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Larutan uji* Larutkan sejumlah zat dalam air hingga diperoleh kadar lebih kurang 10 mg per ml.

*Larutan baku* Larutkan sejumlah *Siprofloksasin Hidroklorida BPF1* dalam air hingga diperoleh kadar 10,0 mg per ml.

*Fase diam* Silika gel setebal 0,25 mm.

*Fase gerak metilen klorida P-metanol P-amonium hidroksida P-asetonitril P (4:4:2:1)* yang tidak jenuh.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah, dalam bentuk pita 1 cm, masing-masing 5 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada *Fase diam*. Masukkan lempeng ke dalam bejana yang jenuh dengan amonia selama lebih kurang 15 menit kemudian angkat lempeng, masukkan ke dalam bejana berisi *Fase gerak*. Biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, beri tanda batas pelarut, biarkan kering di udara lebih kurang 15 menit. Amati bercak di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang pendek dan panjang: intensitas dan harga  $R_f$  bercak yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

C. Menunjukkan reaksi *Klorida* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 4,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1:40).

**Air** <1031> *Metode I* Antara 4,7% dan 6,7%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Sulfat** <361> Tidak lebih dari 0,04%, lakukan penetapan menggunakan 375 mg, kekeruhan yang terjadi tidak lebih dari 0,15 ml *asam sulfat 0,02 N*.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 0,02%.

**Batas asam Fluorokuinolonat** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 5 mg *Asam Fluorokuinolonat BPF1* masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml yang berisi 0,05 ml *amonium hidroksida 6 N*, kemudian tambahkan air sampai tanda dan campur. Pipet 2 ml larutan, masukkan dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Larutkan sejumlah zat dalam air hingga diperoleh larutan yang mengandung lebih kurang 10 mg per ml.

*Fase gerak metilen klorida P-metanol P-amonium hidroksida P-asetonitril P (4:4:2:1)*

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi lapis tipis yang dilapisi dengan campuran *silika gel* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana yang sesuai yang di dalamnya telah diletakkan gelas piala yang berisi 50 ml *amonium hidroksida P*. Setelah 15 menit, angkat lempeng masukkan ke dalam

bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, beri tanda batas pelarut, biarkan kering di udara lebih kurang 15 menit. Amati bercak di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang pendek dan panjang. Intensitas setiap bercak dari *Larutan uji* tidak boleh lebih dari *Larutan baku* dengan harga  $R_f$  yang sama.

**Kemurnian kromatografi** Tidak lebih dari 0,2% siprofloksasin etilendiamina analog atau tidak satupun puncak cemaran yang lain lebih besar dari 0,2% dan total puncak cemaran tidak lebih dari 0,5%.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi, Larutan uji* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Hitung persentase puncak dari masing-masing cemaran pada kromatogram dengan menggunakan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_n} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing masing cemaran dan  $r_n$  adalah total respons puncak.

**Penetapan Kadar** Lakukan *Penetapan kadar* dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat *asam fosfat 0,025 M*, atur pH hingga  $3,0 \pm 0,1$  dengan penambahan *trietilamin P*, campur dengan *asetonitril P (87:13)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Siprofloksasin Hidroklorida BPF1*, larutkan secara kuantitatif dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan resolusi* Larutkan sejumlah *Siprofloksasin Etilendiamin Analog BPF1* dalam *Larutan baku* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 278 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*, pertahankan suhu pada  $30 \pm 1^\circ$ . Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi untuk siprofloksasin adalah antara 6,4 dan 10,8 menit dan waktu retensi relatif untuk siprofloksasin etilendiamin analog dan siprofloksasin berturut-turut adalah 0,7 dan 1,0; dan resolusi,  $R$  antara puncak siprofloksasin etilendiamin analog dan puncak siprofloksasin tidak kurang dari 6.

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom ditentukan dari puncak siprofloksasin tidak kurang dari 2500 lempeng teoritis; faktor ikutan puncak siprofloksasin tidak lebih dari 4,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg siprofloksasin hidroklorida,  $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$ , dalam zat yang digunakan, dengan rumus :

$$50C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

di mana *C* adalah kadar *Siprofoksasin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*, dihitung terhadap zat anhidrat;  $r_U$  dan  $r_S$  adalah respons puncak siprofloksasin yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Simpan pada suhu 25°, diperbolehkan antara 15° dan 30°.

## TABLET SIPROFLOKSASIN Ciprofloxacin Tablet

Tablet Siprofloksasin mengandung siprofloksasin hidroklorida,  $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$  setara tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Siprofloksasin Hidroklorida BPFi*, adalah bentuk monohidrat dari siprofloksasin hidroklorida, tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Tetapkan kandungan air secara titrimetri pada saat akan digunakan analisa kuantitatif. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Siprofloksasin Etilendiamina Analog BPFi* {asam [1-siklopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-okso-7-(2-aminoetil) amino]-3-kuinolin-karboksilat hidroklorida}; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Ambil sejumlah tablet, setara dengan siprofloksasin 1500 mg, masukkan ke dalam labu yang sesuai yang berisi air 750 ml, dan sonikasi selama lebih kurang 20 menit. Encerkan dengan air hingga 1000 ml. Sentrifus suspensi, dan gunakan beningan sebagai *Larutan uji*. Larutkan sejumlah *Siprofloksasin Hidroklorida BPFi* dalam air hingga diperoleh *Larutan*

*baku* dengan kadar 1,5 mg per ml. Lakukan *Identifikasi B* seperti pada *Siprofloksasin Hidroklorida* dimulai dengan "Totolkan secara terpisah dalam bentuk pita 1 cm, masing-masing 5 µl" kecuali gunakan masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi* : 900 ml asam klorida 0,01 N.

*Alat tipe 2* : 50 rpm.

*Waktu* : 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Siprofloksasin Hidroklorida BPFi* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 276 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit siprofloksasin hidroklorida terlarut setara tidak kurang dari 80% (Q), siprofloksasin,  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan *Penetapan kadar* dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* saring dan awaudarkan campuran asam fosfat 0,025 M yang sudah diatur pHnya dengan penambahan trietilamin P sampai pH 2±0,1 dan asetonitril P (87:13).

*Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Siprofloksasin hidroklorida*.

*Larutan baku* Timbang seksama sejumlah *Siprofloksasin hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan resolusi* Larutkan sejumlah *Siprofloksasin Etilendiamin Analog BPFi* dalam *Larutan baku* hingga kadar 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Masukkan 5 tablet ke dalam labu tentukur 500-ml, tambahkan lebih kurang 400 ml *Pengencer*, dan sonikasi selama lebih kurang 20 menit. Encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,45µm. Encerkan sejumlah volume larutan dengan *Pengencer* hingga kadar siprofloksasin lebih kurang 0,20 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 278 nm dan kolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi LI. Pertahankan suhu kolom pada 30±1°. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi untuk siprofloksasin adalah antara 6,4 dan 10,8 menit dan waktu retensi relative untuk siprofloksasin etilendiamin analog dan siprofloksasin berturut turut adalah 0,7 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak siprofloksasin etilendiamin analog dan puncak siprofloksasin tidak kurang dari 6. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam

kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada prosedur; efisiensi kolom ditentukan dari puncak siprofloksasin tidak kurang dari 2500 lempeng teoritis; faktor ikutan puncak siprofloksasin tidak lebih dari 2,0; dan simpangan baku relative pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

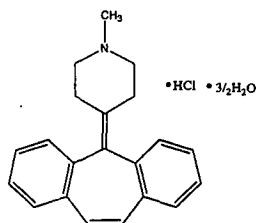
*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Siprofloksasin Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg siprofloksasin,  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ , pada tiap tablet dengan rumus:

$$\left(\frac{331,34}{367,81}\right)\left(\frac{CL}{D}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

331,34 dan 367,81 adalah bobot molekul dari siprofloksasin dan siprofloksasin hidroklorida anhidrat, *C* adalah kadar *Siprofloksasin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml dari *Larutan baku*, dihitung terhadap zat anhidrat, *L* adalah jumlah mg siprofloksasin dalam tiap tablet yang tertera pada etiket, *D* adalah kadar siprofloksasin dalam mg per ml *Larutan uji*, berdasarkan pada jumlah tiap tablet yang tertera pada etiket dan faktor pengenceran;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak siprofloksasin dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan.** Dalam wadah tertutup baik.

## SIPROHEPTADIN HIDROKLORIDA Cyproheptadine Hydrochloride



4-(5*H*-Dibenzo[*a,d*]sikloheptena-5-ilidena)-1-metilpiperidina hidroklorida seskuihidrat [41354-29-4]  
 $C_{21}H_{21}N.HCl.1\frac{1}{2}H_2O$  BM 350,88  
 Anhidrat [969-33-5] BM 323,87

Siproheptadin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{21}H_{21}N.HCl$ , dihitung terhadap zat anhidrat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai agak kuning tidak berbau atau praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; mudah larut dalam metanol; larut dalam kloroform; agak sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Siproheptadin Hidroklorida BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, tetapkan

kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan untuk analisis kuantitatif. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Siproheptadin Hidroklorida BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 16  $\mu\text{g}$  per ml dalam *etanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Siproheptadin Hidroklorida BPF1*; daya serap pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 286 nm: tidak boleh berbeda lebih dari 3,0%.

C. Larutkan 100 mg zat dalam 10 ml *metanol P*, Tambahkan 1 tetes larutan pada kertas saring, keringkan, amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm: terjadi fluoresensi biru terang.

**Keasaman** Tidak lebih dari 0,05% dihitung sebagai HCl; lakukan penetapan dengan melarutkan 1,0 g zat dalam 25 ml *metanol P*, tambahkan *merah metil LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,10 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 0,15 ml.

**Air <1031> Metode I** Antara 7,0% dan 9,0%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 30 bpj.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 650 mg zat yang telah dikeringkan, larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P*, panaskan hingga larut. Dinginkan, tambahkan 10 ml *raksa(II)asetat LP*; 0,5 ml *anhidrida asetat P* dan 1 tetes *kristal violet LP*. Titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga warna hijau. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 32,39 mg  $C_{21}H_{21}N.HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TABLET SIPROHEPTADIN HIDROKLORIDA Cyproheptadine Hydrochloride Tablet

Tablet Siproheptadin Hidroklorida mengandung Siproheptadin Hidroklorida  $C_{21}H_{21}N.HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Siproheptadin Hidroklorida BPF1*; tidak boleh dikeringkan, tetapkan kadar air secara titrimetri jika digunakan untuk analisis kuantitatif. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Identifikasi Basa Nitrogen Organik* <261>.

**Disolusi**<1231>

*Media Disolusi* : 900 ml asam klorida 0,1 N

*Alat tipe 2* : 50 rpm

*Waktu* : 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{21}H_{21}N.HCl$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot (jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*) dan *Larutan baku Siproheptadin Hidroklorida BPF1*, dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 285 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80 % (Q), siproheptadin hidroklorida,  $C_{21}H_{21}N.HCl$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan asam metansulfonat* Buat larutan asam metansulfonat dalam air (3 : 1000).

*Fase gerak* Buat campuran asetonitril *P-isopropanol P-Larutan asam metansulfonat P* (20:15:65), saring dan awaudarakan. Atur pH hingga  $4,0 \pm 0,05$  dengan *trietilamin P*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Siproheptadin Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam *Fase gerak*, hingga kadar lebih kurang 0,08 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah tablet setara dengan lebih kurang 80 mg siproheptadin hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dalam 500 ml *Fase gerak*, sonikasi selama 15 menit, kocok selama 30 menit. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Saring melalui penyaring dengan porositas  $0,45 \mu m$  atau lebih kecil.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 285 nm dan kolom 5 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2 %.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu l$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg siproheptadin hidroklorida,  $C_{21}H_{21}N.HCl$ , dalam tiap tablet yang digunakan dengan rumus:

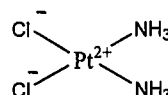
$$1000 \left( \frac{C}{N} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Siproheptadin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; N adalah jumlah tablet yang digunakan dalam *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak siproheptadin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**SISPLATIN**

**Cisplatin**



*Cis-diaminadikloroplatinum* [15663-27-1]

$Cl_2H_6N_2Pt$

BM 300,06

Sisplatin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $Cl_2H_6N_2Pt$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

[Perhatian *Sisplatin* sangat sitotoksik Lakukan dengan sangat hati-hati untuk mencegah terhirupnya partikel dan kontak dengan kulit.]

**Baku pembanding** *Sisplatin BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Transplatin BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Kalium Trikloroaminaplatinat BPF1*.

**Identifikasi**

A. Waktu retensi puncak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan waktu retensi puncak utama pada kromatogram dari *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

B. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti *Sisplatin BPF1*. [Catatan Penggerusan dianjurkan dengan tangan menggunakan mortar untuk mendapatkan hasil yang tetap.]

C. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Campuran aseton P dan asam nitrat 1 N (180:20).

*Penampak bercak* Tambahkan 5,6 g *timah(II) klorida P* pada 10 ml *asam klorida P*, aduk selama 5 menit. [Catatan tidak perlu semua padatan larut.] Larutkan 200 mg *kalium iodida P* dalam 90 ml air. Campur kedua larutan. Abaikan endapan yang terbentuk, simpan larutan di tempat yang gelap. Larutan dapat digunakan dalam waktu 1 minggu.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu l$  larutan dalam *dimetilformamida P* yang mengandung (1) zat uji 0,1 % dan (2) *Sisplatin BPF1* 0,1 % pada lempeng kromatografi campuran *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang dilapisi kertas saring dan telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* selama 30 menit, biarkan

merambat lebih kurang 8 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap, kemudian keringkan lempeng dalam oven pada suhu lebih kurang 100° selama 1 menit, dinginkan, semprot lempeng dengan *Penampak bercak*, panaskan dalam oven pada suhu lebih kurang 100° selama 5 menit, dinginkan dan semprot lempeng dengan larutan *kalium iodida P* (1 dalam 50) dalam air untuk memperjelas warna bercak : harga  $R_f$  bercak utama yang diperoleh dari larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,0 %.

**Perbandingan kemurniaan ultraviolet** [*Catatan Bersihkan alat-alat kaca yang digunakan dengan campuran asam klorida P-asam nitrat P (3:1), bilas saksama dengan air dan keringkan sebelum digunakan. Jangan gunakan bikromat P untuk mencuci. Jangan gunakan aseton P atau udara tekan untuk mengeringkan. Lindungi Larutan uji dari cahaya dan gunakan dalam waktu 1 jam setelah penyiapan.*] Timbang 98,5±0,5 mg zat yang telah digerus, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *asam klorida 0,1 N* sampai tanda. Gunakan pengaduk magnetik yang bersih dengan kecepatan tinggi selama 5 menit dan sonikasikan selama 10 detik sampai larut sempurna, balikkan labu berkali-kali sampai partikel yang melekat pada leher labu terlepas. Ukur serapan menggunakan sel 2-cm dengan *asam klorida 0,1 N* sebagai blanko: perbandingan serapan pada panjang gelombang serapan minimum mendekati 246 nm, tidak kurang dari 4,5.

**Kandungan platina** Antara 64,42% dan 65,22%, dihitung terhadap zat anhidrat. [*Catatan Bersihkan alat-alat kaca yang digunakan dengan asam nitrat P, bilas dengan air murni P untuk mencegah terjadinya lapisan cermin dari endapan platina.*] Timbang saksama lebih kurang 500 mg, masukkan ke dalam gelas piala 600 ml, tambahkan 300 ml *asam klorida 0,1 N*, larutkan perlahan-lahan dengan pemanasan sampai hampir mendidih di atas lempeng pemanas yang ditutup bantalan isolasi sambil sering diaduk dengan batang pengaduk kaca. Jika sudah larut sempurna, pindahkan bantalan isolasi dan didihkan selama lebih kurang 10 menit. Angkat gelas piala dari lempeng pemanas, biarkan dingin sampai 1 menit tanpa pengadukan, saring secara kuantitatif menggunakan kertas saring porositas halus, lembut, tebal dan bebas abu. Kumpulkan filtrat dalam gelas piala 600 ml, pindahkan sempurna dengan bantuan air panas. Cuci kertas saring dengan air panas. Letakkan gelas piala yang berisi campuran filtrat dan air cucian di atas lempeng pemanas, dan uapkan sampai lebih kurang 300 ml. Letakkan batang pengaduk kaca dalam gelas piala, dan panaskan larutan sampai mendidih. Tambahkan perlahan-lahan tetes demi tetes melalui bagian tengah gelas piala 10,0 ml *hidrazina*

*hidrat P 85%* [*Perhatian Hidrazina adalah toksik*] Tambahkan 2 tetes *natrium hidrosida 10 N*, didihkan 10 menit untuk menggumpalkan endapan agar mudah disaring, dinginkan, saring secara kuantitatif melalui kertas saring porositas sedang, bebas abu. Bilas gelas piala dengan air panas, tuangkan air cucian melalui kertas saring. Bersihkan gelas piala dan batang pengaduk dengan sepotong kertas saring yang sama dengan yang digunakan untuk menyaring. Letakkan kertas saring yang berisi endapan dan kertas saring pembersih dalam krus porselen nomer 1 yang sebelumnya telah dipijarkan sampai bobot tetap. Keringkan di atas lempeng pemanas yang ditutup bantalan isolasi, naikkan suhu perlahan-lahan sampai mengarang, pijarkan pada suhu 800° selama 1 jam. Dinginkan dalam desikator dan timbang.

**Trikloroaminaplatinat** Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Timbang 800 mg *amonium sulfat P*, masukan ke dalam labu tentukur 2000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Awaudarkan dan saring melalui penyaring membran sebelum digunakan. pH larutan ini 5,9±0,1. Jika perlu lakukan penyesuaian terhadap kekuatan ion dari fase gerak, untuk memenuhi syarat kesesuaian sistem yang diperlukan.

*Larutkan baku* [*Catatan Gunakan alat kaca aktinik rendah.*] Timbang saksama sejumlah *Kalium Trikloroaminaplatinat BPF1*, larutkan dalam larutan *natrium klorida P 0,9%*, encerkan secara kuantitatif dengan pelarut yang sama hingga kadar lebih kurang 6 µg per ml. Gunakan dalam waktu 4 jam.

*Larutkan uji* [*Catatan Gunakan alat kaca aktinik rendah.*] Timbang saksama lebih kurang 50 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan larutan *natrium klorida P 0,9%* sampai tanda. Aduk dengan pengaduk mekanik selama 30 menit agar larut sempurna. Gunakan dalam waktu 4 jam.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 209 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L14*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak larutan *natrium klorida P 0,9%* dan puncak trikloroaminaplatinat tidak kurang dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak trikloroaminaplatinat. Waktu retensi relatif lebih kurang 1,0 untuk sisplatin dan 5,0 untuk trikloroaminaplatinat. Hitung persentase trikloroamina platinat dengan rumus:

$$10 \left( \frac{318,48}{357,58} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right) \left( \frac{C}{W} \right)$$

318,48 dan 357,58 berturut-turut adalah bobot molekul trikloroaminaplatinat dan kalium trikloroaminaplatinat;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari larutan uji dan larutan baku;  $C$  adalah kadar dalam  $\mu\text{g}$  per ml larutan baku dan  $W$  adalah bobot dalam mg sisplatin yang digunakan.

**Transplatin** Tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* buat larutan kalium fosfat monobasa 0,18 M, atur pH 3,2 dengan asam fosfor P, saring.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Transplatin BPF1*, masukan ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan larutan natrium klorida P 0,9% sampai tanda, dan larutkan dengan pengadukan secara mekanik selama 30 menit.

*Larutan baku kerja* Pipet 5,0 ml larutan baku persediaan ke dalam labu tentukur 25-ml yang berisi lebih kurang 12 mg *sisplatin BPF1*. Encerkan dengan larutan natrium klorida P 0,9% sampai tanda, aduk secara mekanik selama 30 menit sampai larut.

*Larutan baku* Pipet 10 ml *Larutan baku kerja* ke dalam labu tentukur 50-ml. Tambahkan 5,0 ml larutan tiourea P (1 dalam 200) yang dibuat segar dan 5,0 ml asam klorida 1 N. Encerkan dengan larutan natrium klorida P 0,9% sampai tanda. Pindahkan lebih kurang 10 ml larutan ini ke dalam vial serum yang sesuai, tutup dan segel dengan lapisan politef, panaskan dalam blok pemanas dalam suhu  $60^\circ \pm 0,5^\circ$  selama 60 menit. Angkat dan dinginkan sampai suhu kamar.

*Larutan uji* (1) Timbang saksama lebih kurang 50 mg, masukan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan larutan natrium klorida P 0,9% sampai tanda, larutkan dengan pengadukan secara mekanik selama 30 menit.

*Larutan uji* (2) pipet 10 ml larutan uji (1) ke dalam labu tentukur 50-ml, dan lakukan seperti pada *Larutan baku* mulai dengan "Tambahkan 5,0 ml larutan tiourea P (1 dalam 200)".

*Larutan resolusi* Masukan lebih kurang 10 mg *sisplatin BPF1* ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan larutan natrium klorida P 0,9% sampai tanda, aduk secara mekanik selama 30 menit sampai larut. Pipet 10 ml larutan ini dan 10 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam labu tentukur 50-ml, lakukan seperti pada *Larutan baku*, mulai dengan "tambahkan 5,0 ml larutan tiourea P (1 dalam 200)".

*Sistem kromatografi* lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L9. Pertahankan kolom pada suhu  $45^\circ$ . Laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit. Kondisikan kolom dengan cara pemompaan *Fase gerak* dengan laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit selama 30 menit, kemudian 0,5 ml per menit selama 30 menit dan kemudian 2,0 ml per menit selama 30 menit. Lakukan

kromatografi terhadap *Larutan baku*: waktu retensi dari derivat transplatin antara 5,0 dan 9,0 menit, atau jika tidak lakukan modifikasi fase gerak jika perlu dan kondisikan lagi kolom. Efisiensi kolom,  $n$ , tidak kurang dari 2500 lakukan kromatografi terhadap larutan resolusi: resolusi,  $R$ , tidak kurang dari 1,7. Lakukan kromatografi terhadap larutan baku seperti tertera pada prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 4,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan uji* (2) dan *larutan baku* ke dalam kromatografi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak transplatin; waktu retensi relatif sisplatin dan transplatin berturut-turut adalah 1,0 dan 1,3. Hitung persentase transplatin dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Transplatin BPF1* dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan baku kerja*;  $W$  adalah bobot zat dalam mg yang digunakan pada pembuat *Larutan uji* (1);  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* (2) dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran etil asetat P-metanol P-dimetilformamida P dan air yang telah diawaudarakan (25:16:5:5), dan awaudarakan.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *sisplatin BPF1*, larutkan dan encerkan dengan *dimetilformamida P* secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Gunakan dalam waktu 1 jam.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah lebih kurang 100 mg zat, masukan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan *dimetilformamida P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 310 nm dan kolom 30 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L8. Laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* suntikan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 40  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sisplatin,  $\text{Cl}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{Pt}$ , dalam zat yang di gunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *sisplatin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku* :  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-berturut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

## SISPLATIN UNTUK INJEKSI Cisplatin for Injection

Sisplatin untuk Injeksi adalah campuran terliofilisasi steril dari Sisplatin, Manitol dan Natrium Klorida. Mengandung  $\text{Cl}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{Pt}$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

[Perhatian *Sisplatin* sangat sitotoksik. Lakukan dengan sangat hati-hati dalam penanganan serbuk dan penyiapan larutan.]

**Baku pembanding** *Sisplatin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Transplatin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Kalium Trikloroaminaplatinat BPFi* Keringkan dalam vakum di atas fosfor pentoksida pada suhu ruang selama 20 jam, simpan dalam wadah tertutup rapat.

*Endotoksin BPFi*. [Catatan Bersifat sangat sitotoksik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi; gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada Identifikasi *Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Larutan baku* Buat larutan baku dalam air yang mengandung *Siplatin BPFi* 1,0 mg per ml, larutan *natrium klorida P* 0,9% dan *D-manitol P* 10 mg per ml.

*Larutan uji* Larutkan seluruh isi dari 1 wadah dengan air sampai diperoleh *sisplatin* 1,0 mg per ml, berdasarkan yang tertera pada etiket.

*Penampak bercak* Lakukan seperti tertera pada *Penampak bercak* pada uji *Identifikasi C* dalam *Sisplatin*.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* dalam uji *Identifikasi C* dalam *Sisplatin*, mulai dengan "Toltolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu\text{l}$ " Bercak utama *Larutan uji* mempunyai warna dan harga  $R_f$  sesuai dengan *Larutan baku*.

**Larutan terkonstitusi** Pada saat pemakaian, larutan terkonstitusi yang disiapkan dari *Sisplatin* untuk Injeksi memenuhi syarat "Larutan terkonstitusi" seperti tertera pada *Injeksi*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 2,0 unit Endotoksin FI per mg.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat; lakukan penetapan dengan *Prosedur uji* menggunakan penyaringan membran.

**pH** <1071> Antara 3,5 dan 6,2; lakukan penetapan dalam larutan terkonstitusi seperti tertera pada etiket, menggunakan *Air Steril untuk Injeksi*

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0% gunakan formamida anhidrat sebagai larutan pengekstraksi. Lakukan penetapan sebagai berikut: Masukkan lebih kurang 50 ml formamida anhidrat ke dalam labu titrasi, dan titrasi dengan *Pereaksi* sampai akhir titrasi secara elektrometrik. Gunakan *formamida P* yang telah dikeringkan untuk membilas alat suntik dari kaca yang dilengkapi dengan jarum ukuran 22, panjang lebih kurang 8 cm. Tambahkan bilasan kembali ke labu titrasi, jika perlu titrasi kembali isi labu. Dengan alat suntik ambil 5 ml *formamida P* yang telah dititrasi, masukkan ke dalam wadah melalui tutup. Kocok wadah hingga larut. Dengan alat suntik yang sama, ambil semua larutan dari dalam wadah, pindahkan ke dalam labu titrasi. Titrasi sampai titik akhir titrasi, atur kecepatan yang terendah untuk menghindarkan titrasi yang berlebihan.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat

**Trikloroaminaplatinat** Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada uji *Trikloroaminaplatinat* dalam *Sisplatin*.

*Larutan uji* Larutkan secara kuantitatif isi satu wadah dalam alat kaca aktinik rendah hingga diperoleh kadar *sisplatin* 0,5 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* yang tertera pada *Trikloroaminaplatinat* dalam *Sisplatin*. Hitung persentase trikloroaminaplatinat dengan rumus:

$$0,1 \left( \frac{318,48}{357,58} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right) \left( \frac{CV}{W} \right)$$

318,48 dan 357,58 berturut-turut adalah bobot molekul trikloroaminaplatinat dan kalium trikloroaminaplatinat;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respon puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*; *C* adalah kadar dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Trikloroaminaplatinat BPFi* dalam *Larutan baku*; *V* adalah volume kandungan terkonstitusi dalam wadah, dalam ml dan *W* adalah bobot *sisplatin* yang di gunakan untuk membuat *Larutan uji*.

**Transplatin** Tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Fase gerak, Larutan baku persediaan, Larutan baku kerja, Larutan baku, Larutan resolusi, dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada uji Transplatin dalam Sisplatin

Larutan uji (1) Larutkan secara kuantitatif isi 1 wadah dalam air hingga diperoleh kadar sisplatin 0,5 mg per ml

Larutan uji (2) Siapkan seperti Larutan uji (2) yang tertera pada uji Transplatin dalam Sisplatin

Prosedur Lakukan menurut Prosedur pada uji Transplatin dalam Sisplatin. Hitung persentase transplatin dengan rumus :

$$0,1 \left( \frac{CV}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar dalam µg per ml Larutan baku; V adalah volume kandungan terkonstitusi tiap wadah, dalam ml; W adalah bobot sisplatin yang tertera pada etiket dalam mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respon puncak yang diperoleh dari Larutan uji dan Larutan baku.

Syarat lain Memenuhi syarat Penandaan seperti tertera pada Injeksi.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>

Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Sisplatin.

Larutan uji Larutkan secara kuantitatif dari 1 wadah dan sonikasi dalam dimetilformamida P selama 5 menit hingga diperoleh kadar lebih kurang 1,0 mg per ml. Saring 5 ml larutan melalui penyaring membran yang sesuai, buang 1 ml saringan pertama, kumpulkan filtrat.

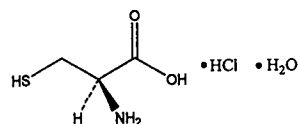
Prosedur Lakukan menurut Prosedur yang tertera pada Penetapan kadar dalam Sisplatin. Hitung jumlah dalam mg sisplatin,  $Cl_2H_6N_2Pt$ , per wadah dengan rumus:

$$CV \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar dalam Sisplatin BPFI dalam mg per ml Larutan baku; V adalah volume kandungan konstitusi wadah dalam ml;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah steril untuk sediaan padat seperti tertera pada Injeksi, terlindung cahaya

## SISTEIN HIDROKLORIDA Cysteine Hydrochloride



L-Sistein hidroklorida monohidrat [7048-04-6]

$C_3H_7NO_2S.HCl.H_2O$  BM 175,64

$C_3H_7NO_2S.HCl$  [52-89-1] BM 157,62

Sistein Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5%  $C_3H_7NO_2S.HCl$ , sebagai L-sistein hidroklorida dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Hablur atau serbuk hablur, putih.

Kelarutan Larut dalam air, dalam etanol dan dalam aseton.

Baku pembanding L-Sistein Hidroklorida BPFI; Merupakan monohidrat dari bentuk L-Sistein Hidroklorida. Lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg selama 24 jam sebelum digunakan. Simpan pada wadah tertutup rapat. L-Tirosin BPFI; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

Identifikasi Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan dispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada L-Sistein Hidroklorida BPFI.

Rotasi jenis <1081> Antara +5,7° dan +6,8°; lakukan penetapan menggunakan larutan 80 mg per ml dalam asam klorida 6 N.

Susut pengeringan <1121> Antara 8,0% dan 12,0%; lakukan penetapan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg selama 24 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,4%.

Sulfat <361> Tidak lebih dari 0,03%; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 330 mg dan bandingkan kekeruhan dengan 0,10 ml asam sulfat 0,020 N.

Besi <331> Tidak lebih dari 30 bpj.

Logam berat <371> Metode I Tidak lebih dari 15 bpj.

Kemurnian kromatografi Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,5% dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.



*Fase gerak* Buat campuran butil alkohol P-asam asetat glasial P-air (60:20:20).

*Larutan N-etilmaleimid* Buat larutan N-etilmaleimid P 4% dalam etanol P.

*Penampak bercak* Larutkan 0,2 g ninhidrin P dalam 100 ml campuran butil alkohol P-asam asetat 2 N (95:5).

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 20 mg L-Sistein Hidroklorida BPF1, larutkan dalam 10,0 ml air, tambahkan 10,0 ml Larutan N-etilmaleimid, campur, diamkan larutan selama 5 menit sebelum digunakan.

*Larutan baku* Pipet 5 ml Larutan baku persediaan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. [Catatan Larutan ini mempunyai kadar setara dengan 0,5% Larutan uji.]

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml. larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan, tambahkan 5,0 ml Larutan N-etilmaleimid. Diamkan selama 5 menit sebelum digunakan.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama 10 mg L-Tirosin BPF1 masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

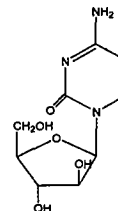
*Prosedur* Totolkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 $\mu$ l) Larutan uji, Larutan baku, Larutan kesesuaian sistem pada lempeng kromatografi silika gel P setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan Fase gerak, biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng, angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan lempeng. Amati lempeng pada cahaya UV 254 nm, kemudian semprot dengan Penampak bercak, keringkan lempeng pada suhu antara 100° dan 105° selama lebih kurang 15 menit. Amati bercak di bawah cahaya putih: kromatogram dari Larutan kesesuaian sistem menunjukkan dua bercak yang terpisah dengan baik; bercak sekunder pada Larutan uji tidak lebih besar atau lebih intens dari bercak utama pada Larutan baku.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, masukkan ke dalam labu iodium. Tambahkan 20 ml air dan 4 g kalium iodida P, campur hingga larut. Dinginkan larutan dalam tangas es, tambahkan 5 ml asam klorida 3 N dan 25,0 ml iodium 0,1 N LV, tutup, diamkan di tempat gelap selama 20 menit. Titrasi kelebihan iodium dengan natrium tiosulfat 0,1 N LV. Mendekati titik akhir tambahkan 3 ml kanji LP. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml iodium 0,1 N  
setara dengan 15,76 mg C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S.HCl

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## SITARABIN Cytarabine



1- $\beta$ -D-Arabinofuranosilsitosina [147-94-4]

C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

BM 243,22

Sitarabin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%, C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga hampir putih; tidak berbau.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** Sitarabin BPF1; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya. Urasil Arabinosida BPF1 tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya. Endotoksin BPF1. [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi; gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam dan didispersikan dalam minyak mineral P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Sitarabin BPF1.

B. Waktu retensi puncak utama Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh dari Penetapan kadar.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +154° dan +160°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 100 mg per 10 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,5%.

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 10 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Tiap cemaran tidak lebih dari 0,10% dan total cemaran tidak lebih dari 0,30% (termasuk urasil arabinosida). Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Dapar fosfat** Buat larutan yang mengandung *natrium fosfat monobasa 0,01 M* dan *natrium fosfat dibasa 0,01 M* dalam wadah yang sesuai. Atur pH hingga 7,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 0,1 M* atau *asam fosfat 0,1 M*.

**Larutan A** Buat campuran *Dapar fosfat-metanol P (49:1)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Buat larutan segar tiap hari.

**Larutan B** Buat campuran *Dapar fosfat-metanol P (7:3)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Buat larutan segar tiap hari.

**Fase gerak** Gunakan campuran *Larutan A* dan *Larutan B* dengan variasi volume seperti tertera pada *Sistem Kromatografi*.

**Larutan kesesuaian sistem** Larutkan sejumlah *uridin P*, *Urasil Arabinosida BPF1* dan *Sitarabin BPF1* dalam air, berturut-turut hingga kadar lebih kurang 0,02; 0,02 dan 5,0 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Sitarabin BPF1*, larutkan dalam air dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap hingga kadar lebih kurang 4 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 25 mg sitarabin, masukkan ke dalam labu tentukur 5-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda [Catatan *Larutan dibuat segar.*]

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Atur kromatografi untuk menetapkan variasi volume campuran *Larutan A* dan *Larutan B*, pada saat penyuntikan persentase *Larutan B* 0%, komposisi ini dipertahankan selama 10 menit. Persentase *Larutan B* secara linier dinaikkan hingga 100% selama periode 10 menit, komposisi ini dipertahankan selama 5 menit. Selanjutnya persentase *Larutan B* secara linier diturunkan hingga 0% selama periode 5 menit. Biarkan selama 20 menit untuk keseimbangan sistem. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif untuk urasil, uridin, urasil arabinosida dan sitarabin berturut-turut adalah lebih kurang 0,55; 1,14; 1,62 dan 1,0, *resolusi, R*, antara sitarabin dan uridin tidak kurang dari 1,25. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*, simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

**Prosedur** Suntikkan sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons

puncak. Hitung persentase *urasil arabinosida* dalam zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{1,34 r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Sitarabin BPF1*, dalam mg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot zat uji dalam mg; *1,34* adalah faktor respons relatif untuk urasil arabinosida; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak urasil arabinosida dalam *Larutan uji*; *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak *Sitarabin BPF1* dalam *Larutan baku*. Hitung persentase semua cemaran dalam zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{F r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Sitarabin BPF1*, dalam mg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot zat uji dalam mg; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak tiap cemaran dalam *Larutan uji*; *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak *Sitarabin BPF1* dalam *Larutan baku*; *F* adalah faktor respons relatif sebanding dengan 2,5 puncak urasil dengan waktu retensi relatif 0,55; 1,5 untuk puncak dengan waktu retensi relatif 0,38, 0,43 dan 1,14; dan 1,0 untuk semua puncak lain.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan *Sitarabin steril* harus memenuhi persyaratan *Uji Sterilitas <71>* dan *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Sitarabin untuk Injeksi*. Jika pada etiket dinyatakan *Sitarabin untuk pembuatan sediaan injeksi*, harus memenuhi uji *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Sitarabin untuk Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Dapar fosfat** Larutkan 730 mg *natrium fosfat monobasa P* dan 1,4 g *natrium fosfat dibasa P* dalam 1000 ml air, campur dan saring.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar fosfat-metanol P (95:5)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Sitarabin BPF1*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan resolusi** Timbang saksama sejumlah *Urasil Arabinosida BPF1*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *Larutan baku* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x

4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif untuk sitarabin dan urasil arabinosida berturut-turut adalah 1,0 dan 1,3 dan resolusi, *R*, antara sitarabin dan urasil arabinosida tidak kurang dari 2,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*, simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%. [*Catatan setelah dilakukan kromatografi secara sempurna, bilas kolom dengan campuran air-metanol P (7:3).*]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sitarabin, C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, dalam zat yang di gunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sitarabin BPF1* dalam mg per ml *Larutan Baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Jika digunakan dalam pembuatan sediaan injeksi; pada etiket dicantumkan steril atau digunakan dalam proses pembuatan sediaan injeksi.

### SITARABIN UNTUK INJEKSI Cytarabine for Injection

Sitarabin untuk Injeksi mengandung sitarabin C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sitarabin BPF1*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya. *Urasil Arabinosida BPF1* tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya. *Endotoksin BPF1*. [*Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi seluruh isi; gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Pada saat digunakan, larutan terkonstitusi memenuhi persyaratan *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Identifikasi Waktu retensi puncak utama** *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, yang diperoleh dari *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 0,07 unit Endotoksin FI per mg.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 6,0; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung setara dengan 10 mg sitarabin per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 3,0%.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Uji Sterilitas* <71>, *Keseragaman Sediaan* <911> dan *Penandaan* pada *Injeksi*. Bahan obat yang terdapat dalam vial memenuhi syarat yang tertera pada *Sitarabin*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar Fosfat, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Sitarabin*.

*Larutan uji* Konstitusi secara terpisah 5 vial *sitarabin untuk injeksi* dalam sejumlah volume air sesuai dengan volume yang tertera pada etiket. Kumpulkan dan campur larutan terkonstitusi dalam wadah yang sesuai. Ukur saksama sejumlah volume larutan terkonstitusi setara dengan 100 mg sitarabin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

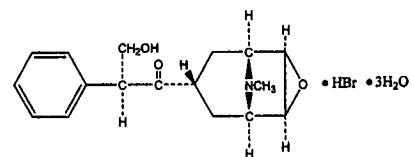
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sitarabin C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> dalam larutan terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sitarabin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*, *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah* untuk *Padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*.

### SKOPOLAMIN HIDROBROMIDA Scopolamine Hydrobromide



*Ester 6β,7-epoksi-1 αH,5αH-tropan-3α-ol(-)-*

*Tropat hidrobromida trihidrat* [6533-68-2]

$C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$

BM 438,31

Anhidrat [114-49-8]

BM 384,27

Skopolamin Hidrobromida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

[Perhatian Bahan beracun, tangani dengan sangat hati-hati.]

**Pemerian** Hablur, tidak berwarna atau putih, atau serbuk granul, putih; tidak berbau dan agak merekah di udara kering.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; larut dalam etanol; sukar larut dalam kloroform; tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Skopolamin Hidrobromida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Larutkan 3 mg zat dalam 1 ml *etanol P* dan uapkan di atas tangas uap hingga kering. Larutkan residu dalam 0,5 ml *kloroform P*, tambahkan 200 mg *kalium bromida P* dan 15 ml *eter P*, aduk selama 5 menit. Enaptuangkan pelarut, keringkan residu di atas tangas uap hingga bau pelarut hilang. Spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, yang sebelumnya dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Skopolamin Hidrobromida BPFI*.

B. Pada 1 ml larutan (1 dalam 20), tambahkan beberapa tetes *klor LP*, kocok dengan 1 ml *kloroform P*: lapisan kloroform berwarna kecokelatan.

**Jarak lebur** <1021> Antara 195° dan 199°; lakukan penetapan menggunakan zat yang telah dikeringkan pada hampa udara selama 24 jam dan kemudian pada suhu 105° selama 2 jam.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -24° dan -26°, dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 500 mg per 10 ml.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 5,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).

**Air** <1031> *Metode III* Tidak lebih dari 13,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <311> Dapat diabaikan; lakukan penetapan menggunakan 100 mg.

**Apoatropin** Pada 15 ml larutan (1 dalam 100) tambahkan 0,05 ml kalium *permanganat 0,1 N LV*: warna larutan tidak hilang semua dalam waktu 5 menit.

**Alkaloid asing lain** Pada 1 ml larutan (1 dalam 20) tambahkan beberapa tetes *amonium hidroksida 6 N*: tidak terbentuk kekeruhan. Tambahkan *kalium hidroksida 1 N* pada 1 ml larutan lainnya: hanya terbentuk sedikit kekeruhan putih.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 750 mg zat, larutkan dalam campuran 30 ml *asam asetat glasial P* dan 10 ml *raksa(II) asetat LP*, hangatkan hingga larut sempurna. Dinginkan larutan hingga suhu kamar, tambahkan 2 tetes *kristal violet LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 38,43 mg  $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI SKOPOLAMIN HIDROBROMIDA Scopolamine Hydrobromide Injection

Injeksi Skopolamin Hidrobromida adalah larutan steril Skopolamin Hidrobromida dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung Skopolamin Hidrobromida,  $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Skopolamin Hidrobromida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

#### Identifikasi

A. Masukkan sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 3 mg Skopolamin hidrobromida ke dalam corong pisah 50 ml. Jika perlu encerkan dengan air sampai 10 ml. Tambahkan 0,2 ml *amonium hidroksida P* dan ekstraksi dengan 25 ml *kloroform P*. Tambahkan 50 ml *eter P* pada larutan kloroform dan lewatkan campuran melalui kolom kromatografi 25 cm x 25 mm yang disumbat wol kaca pada dasar tabung, berisi 2 g tanah diatome murni yang sebelumnya telah dicampur dengan 1 ml *asam fosfat 0,2 N* yang dijenuhkan dengan *natrium bromida P*. Eluasi dengan 25 ml *eter P* jenuh air dan buang eluat. Eluasi dengan 100 ml *kloroform P* jenuh air, kumpulkan eluat dan uapkan hingga hampir kering. Larutkan residu dalam 1 ml *etanol P*, dan lanjutkan seperti tertera pada *Identifikasi A* dalam *Skopolamin Hidrobromida*, mulai dari "dan uapkan di atas tangas uap hingga kering".

B. Pada sejumlah volume injeksi, tambahkan *perak nitrat LP*: terbentuk endapan putih kekuningan, tidak larut dalam *asam nitrat P* tetapi sukar larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

**pH** <1071> Antara 3,5 dan 6,5.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar**

*Dapar pH 9,0* Larutkan 34,8 g kalium fosfat dibasa P, dalam 900 ml air, atur hingga pH 9,0 dengan penambahan asam klorida 3 N atau natrium hidroksida 1 N, tetapkan secara elektrometrik, jika perlu dengan pengadukan.

*Larutan baku internal* Larutkan dan encerkan lebih kurang 25 mg homatropin hidrobromida dengan air dalam labu tentukur 50-ml sampai tanda. Larutan dibuat segar tiap hari.

*Larutan baku I* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Skopolamin Hidrobromida BPFi*, larutkan dan encerkan dengan air dalam labu tentukur 100-ml sampai tanda. Larutan dibuat segar tiap hari.

*Larutan baku II* Pipet 10 ml *Larutan baku I* ke dalam corong pisah tambahkan 2,0 ml *Larutan baku internal* dan 5,0 ml *dapar pH 9*, atur pH hingga 9,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*, secara hati-hati jangan sampai berlebih. Segera ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 10 ml *metilen klorida P*, saring ekstrak melalui 1 g *natrium sulfat anhidrat P* ke dalam gelas piala 50 ml, uapkan dengan aliran nitrogen hingga volume 2,0 ml.

*Larutan uji* Masukkan sejumlah volume injeksi yang diukur saksama, setara dengan lebih kurang 10 mg *Skopolamin hidrobromida* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji II* Pipet 10 ml *Larutan uji I* ke dalam corong pisah, tambahkan 2,0 ml *Larutan baku internal* dan 5,0 ml *dapar pH 9*, atur pH hingga 9,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*, secara hati-hati jangan sampai berlebih. Segera ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 10 ml *metilen klorida P*, saring ekstrak melalui 1 g *natrium sulfat anhidrat* ke dalam gelas piala 50 ml, uapkan dengan aliran nitrogen hingga volume 2,0 ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan kolom kaca 1,8 m x 2 mm berisi bahan pengisi 3% fase cair G3 pada partikel penyangga *SIAB*, dikondisikan dengan cara seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Pertahankan suhu kolom pada 225° dan gunakan *nitrogen P* sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 25 ml per menit.

*Kesesuaian sistem* Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku II* dengan menyuntikkan 6 sampai 10 kali, dan rekam kromatogram, ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif untuk perbandingan respons puncak pada penyuntikan ulang *Larutan baku II*,  $R_A$  tidak lebih dari 2,0%; faktor resolusi antara  $A_H$  dan  $A_A$  tidak kurang dari 5; faktor ikutan tidak lebih dari 2,0.

*Prosedur* Suntikkan masing-masing 1 µl *Larutan uji II* dan *Larutan baku II* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak *Skopolamin*

hidrobromida dan homatropin hidrobromida dalam tiap kromatogram. Hitung masing-masing perbandingan luas puncak *Skopolamin hidrobromida* terhadap luas puncak baku internal dari kromatogram *Larutan uji II*,  $A_u$  dan dari kromatogram *Larutan baku II*,  $A_s$ . Hitung jumlah dalam mg *skopolamin hidrobromida*,  $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$ , dalam volume injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$1,141W \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

$W$  adalah bobot *Skopolamin Hidrobromida BPFi* dalam mg *Larutan baku I*; 1,141 adalah perbandingan bobot molekul *Skopolamin hidrobromida trihidrat* terhadap *Skopolamin hidrobromida anhidrat*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I.

**TABLET SKOPOLAMIN HIDROBROMIDA**  
**Scopolamine Hydrobromide Tablet**

Tablet *Skopolamin Hidrobromida* mengandung *Skopolamin Hidrobromida*,  $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Skopolamin Hidrobromida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Masukkan sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 3 mg *Skopolamin hidrobromida* ke dalam corong pisah 50 ml, tambahkan 10 ml air dan kocok selama 2 menit. Lanjutkan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi A* dalam *Injeksi Skopolamin Hidrobromida*, mulai dari "tambahkan 0,2 ml *amonium hidroksida P*".

**Waktu hancur** <1251> Tidak lebih dari 15 menit; lakukan penetapan tanpa menggunakan cakram.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 1,0 mg *Skopolamin hidrobromida*, masukkan ke dalam corong pisah yang berisi 5 ml *Dapar pH 9,0*, tambahkan dengan pipet 2,0 ml *Larutan baku internal* (buat seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Injeksi Skopolamin Hidrobromida*). Atur dengan *natrium hidroksida 1 N* hingga pH 9,0. Ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 10 ml *diklorometan P*, saring ekstrak ke dalam gelas piala 50 ml melalui 1 g *natrium sulfat anhidrat P* dalam

corong bersumbat kapas. Uapkan ekstrak dengan aliran gas nitrogen hingga lebih kurang 2,0 ml. Gunakan larutan ini sebagai *Larutan uji II* dan lanjutkan penetapan seperti yang tertera pada *Penetapan kadar dalam Injeksi Skopolamin Hidrobromida*. Hitung jumlah dalam mg skopolamin,  $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot 3H_2O$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

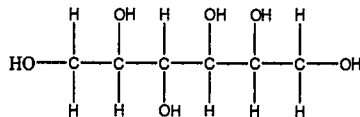
$$1,141 \left( \frac{W}{10} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*W* adalah bobot *Skopolamin Hidrobromida BPF1* dalam mg *Larutan baku I*; 1,141 adalah perbandingan bobot molekul skopolamin hidrobromida trihidrat terhadap skopolamin hidrobromida anhidrat;  $A_U$  dan  $A_S$  seperti tersebut di atas pada *Injeksi Skopolamin Hidrobromida*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat.

## SORBITOL

### Sorbitol



*D-glusitol* [50-70-4]  
 $C_6H_{14}O_6$

BM 182,17

Sorbitol mengandung tidak kurang dari 91,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_6H_{14}O_6$ , dihitung terhadap zat anhidrat. Dapat mengandung sejumlah kecil alkohol polihidrik lain.

**Pemerian Serbuk**; granul atau lempengan; higroskopis; putih; manis.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol, dalam metanol dan dalam asam asetat.

**Baku pembanding** *Sorbitol BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *Kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sorbitol BPF1*.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,0%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Arsen** <321> *Metode II* Tidak lebih dari 3 bpj.

**Klorida** <351> Tidak lebih dari 0,005%; lakukan penetapan menggunakan 1,5 g dan bandingkan kekeruhan dengan 0,10 ml *asam klorida 0,020 N*.

**Sulfat** <351> Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan menggunakan 1,0 g dan bandingkan kekeruhan dengan 0,10 ml *asam sulfat 0,020 N*.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 2 g dalam 25 ml air.

**Gula mereduksi** Timbang saksama 7 g, masukkan ke dalam gelas piala 400 ml dengan 35 ml air. Tambahkan 50 ml *tembaga(II) tartrat alkali LP*, tutup, panaskan dengan mengatur suhu hingga waktu yang dibutuhkan untuk mendidih adalah 4 menit, dan didihkan selama 2 menit tepat. Kumpulkan endapan tembaga(I) oksida di dalam krus penyaring yang telah ditara dan sebelumnya dicuci berturut-turut dengan air panas, dengan *etanol P*, dengan *eter P* dan kemudian dikeringkan pada suhu 105° selama 30 menit. Cuci endapan dengan air panas, kemudian dengan 10 ml *etanol P*, dengan 10 ml *eter P*, dan keringkan pada suhu 105° selama 30 menit: bobot endapan tembaga(I) oksida tidak lebih dari 50 mg.

**Gula total** Masukkan 2,1 g ke dalam labu 250 ml bertutup asah, tambahkan 40 ml *asam klorida 0,1 N*, refluks selama 4 jam. Pindahkan larutan ke dalam gelas piala 400 ml, bilas labu dengan lebih kurang 10 ml air, netralkan dengan *natrium hidoksida 6 N*, dan lanjutkan pengujian seperti tertera pada *Gula mereduksi*, mulai dengan "Tambahkan 50 ml *tembaga(II) tartrat alkali LP*": bobot tembaga(I) oksida tidak lebih dari 50 mg.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Gunakan air yang sudah diawaudarakan.

*Larutan resolusi* Larutkan manitol dan *Sorbitol BPF1* dalam air hingga kadar masing-masing larutan lebih kurang 4,8 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sorbitol BPF1*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 4,8 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 240 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam 10 ml air, encerkan dengan air sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor indeks refraktif yang suhunya dipertahankan tetap dan kolom 30 cm x 7,8 mm berisi bahan pengisi *L19*. Suhu kolom dipertahankan 30°±2° dan laju alir lebih kurang 0,2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%. Dengan cara yang sama lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*:

resolusi, *R*, antara puncak sorbitol dan manitol tidak kurang dari 2,0.

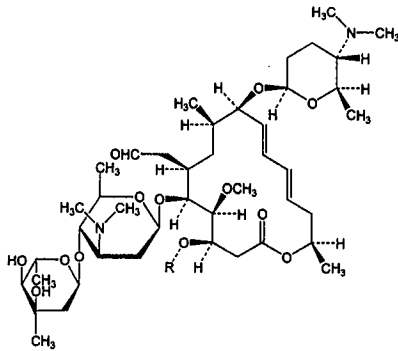
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sorbitol, C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$50C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sorbitol BPF* dalam mg per ml *Larutan Baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### SPIRAMISIN Spiramycin



(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6[[3,6-dideoksi-4-*O*-(2,6-dideoksi-3-*C*-metil- $\alpha$ -*L*-riboheksopiranosil)-3-(dimetilamino)- $\beta$ -*D*-glukopiranosil]oksi]-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-7-(2-oksoetil)-10[[2,3,4,6, tetradeoksi-4-(dimetilamino)-*D*-eritro-heksapiranosil]oksi]oksa sikloheksadeksa-11,13-dien-2-on

Spiramisin I

C<sub>43</sub>H<sub>74</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub> BM 843,1

Spiramisin II (4-*O*-asetilspiramisin I)

C<sub>45</sub>H<sub>76</sub>N<sub>2</sub> BM 885,1

Spiramisin III (4-*O*-propanoilspiramisin I)

C<sub>46</sub>H<sub>78</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> BM 899,1

Spiramisin merupakan antibiotik golongan makrolida yang diproduksi oleh *Streptomyces ambofaciens* atau *Streptomyces* yang lainnya. Mengandung tidak kurang dari 4100 IU per mg, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk putih atau kekuningan, sedikit higroskopis.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; mudah larut dalam aseton, dalam etanol dan dalam metanol.

**Baku pembanding** *Spiramisin BPF*; *Eritromisin A BPF*.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan dalam *metanol P* (1 dalam 100.000); yang diukur pada panjang gelombang antara 220 nm dan 350 nm, menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 232 nm, dengan serapan spesifik maksimum 340.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>. *Fase gerak* Buat campuran 2-propanol *P*-amonium asetat (150 g per l) pH 9,6-etilasetat *P* (4:8:9).

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 40 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan baku 1* Timbang saksama lebih kurang 40 mg *Spiramisin BPF*, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Timbang saksama lebih kurang 40 mg *Eritromisin A BPF* ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel G*. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan, semprot dengan penampak bercak *anisaldehida LP* dan panaskan pada suhu 110° selama 5 menit. Intensitas, warna dan harga *R<sub>f</sub>* bercak utama pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan bercak utama pada kromatogram *Larutan baku 1*. Jika pada kromatogram *Larutan uji* diperoleh 1 atau 2 bercak lain dengan harga *R<sub>f</sub>* lebih besar dari harga *R<sub>f</sub>* bercak utama, maka bercak tersebut letak dan warnanya harus sesuai dengan bercak lain selain bercak utama yang diperoleh dari *Larutan baku 1* dan berbeda dari bercak pada kromatogram *Larutan baku 2*.

C. Larutkan 0,5 g zat dalam 10 ml *asam sulfat 0,05 M*, dan tambahkan 25 ml air, atur pH hingga 8 dengan penambahan *natrium hidroksida 0,1 N* dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Pipet 5 ml larutan, tambahkan 2 ml campuran air-*asam sulfat P* (1:2); terjadi warna cokelat.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -80° dan -85° terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan 1 g zat dalam 50 ml *asam asetat 10 % v/v*.

**pH** <1071> Antara 8,5 dan 10,5; lakukan penetapan menggunakan larutan sebagai berikut: Larutkan 0,5 mg zat dalam 5 ml *metanol P* dan encerkan dengan *air bebas karbon dioksida P* hingga 100 ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 3,5%; lakukan pengeringan di atas fosfor pentoksida P pada suhu 80° dengan tekanan tidak lebih dari 0,67 kPa selama 6 jam, lakukan penetapan menggunakan 500 mg zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Logam berat** <371> Metode V Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Komposisi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Larutan baku, Larutan uji, dan Sistem kromatografi* lakukan seperti tertera pada *Senyawa sejenis*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku 2* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung persentase komposisi spiramisin I, II dan III berdasarkan komposisi yang tertera pada etiket *Spiramisin BPF1*. Komposisi spiramisin dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan adalah spiramisin I tidak kurang dari 80,0%; spiramisin II tidak lebih dari 5,0%; spiramisin III tidak lebih dari 10,0%; jumlah semua spiramisin I, II dan III tidak kurang dari 90,0%

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>. [Catatan Semua larutan dibuat segar.]

*Dapar pH 6,5* Buat larutan kalium fosfat dibasa P 34,8 g per 1000 ml dalam air, atur pH hingga 6,5 dengan penambahan larutan kalium fosfat monobasa P 27,2 g per 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar pH 6,5-asetonitril P-air* (5:40:55). Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Pelarut* Buat campuran *metanol P-air* (3:7).

*Larutan baku 1* Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Spiramisin BPF1* masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Pipet 2 ml *Larutan baku 1* ke dalam labu tentukur 100-ml. Encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Larutan baku 3* Timbang saksama lebih kurang 5 mg *Spiramisin BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Dapar pH 2,2* sampai tanda. Panaskan di atas tangas air pada suhu 60° selama 30 menit. Dinginkan dalam air dingin.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Blangko* Gunakan *Pelarut* sebagai blangko.

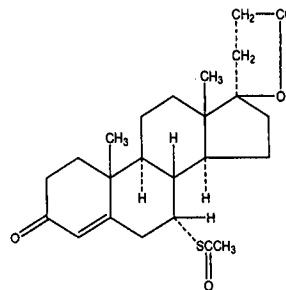
**Sistem kromatografi** Lakukan Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 232 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi LI dengan ukuran partikel 5 µm, ukuran pori 12,5 nm, dan muatan karbon 15%. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit, dan pertahankan suhu kolom pada 70°. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku 1, 2 dan 3*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara cemaran A dan spiramisin tidak kurang dari 10,0; waktu retensi relatif spiramisin I, spiramisin II, spiramisin III, cemaran A, cemaran B, cemaran D, cemaran E, cemaran F, cemaran G dan cemaran H berturut-turut adalah lebih kurang 1,0; 1,4; 2,0; 0,45; 0,73; 0,50; 2,5; 0,41; 0,66 dan 0,87.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku 1* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak kecuali puncak pelarut, spiramisin I, II dan III. Masing-masing Cemaran A (neospiramisin I); Cemaran B (spiramisin IV); Cemaran D (spiramisin V); Cemaran E (18-deoksi-18-dihidrosipiramisin atau DSPM); Cemaran F (spiramisin dimer); Cemaran G (neospiramisin II); dan Cemaran H (neospiramisin III); respons puncak masing-masing cemaran tidak lebih dari respons puncak utama *Larutan baku 2* (2,0%); respons puncak masing-masing cemaran tidak lebih dari respons puncak utama *Larutan baku 2* (2,0%); jumlah cemaran tidak lebih dari 5 kali respons puncak utama *Larutan baku 2* (10,0%). Abaikan respons puncak yang lebih kecil dari 0,05 kali respons puncak utama *Larutan baku 2* (0,1%).

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup kedap.

## SPIRONOLAKTON Spironolactone



17-Hidroksi-7 $\alpha$  merkapto-3-okso-17 $\alpha$ -pregn-4-ena-21-  
asam karboksilat-lakton asetat [52-01-7]  
C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>S BM 416,57



Spironolakton mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{24}H_{32}O_4S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; krim terang sampai cokelat terang; bau lemah seperti merkaptan; stabil di udara.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam benzen dan dalam kloroform; larut dalam etil asetat dan dalam etanol; sukar larut dalam metanol dan dalam minyak lemak.

**Baku pembanding** *Spironolakton BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan dilarutkan dalam *kloroform P* (1 dalam 20) menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Spironolakton BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan zat yang telah dikeringkan 10  $\mu\text{g}$  per ml dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Spironolakton BPF1*; serapan masing-masing dihitung pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm: berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Larutkan 100 mg zat dalam 10 ml air dan 2 ml *natrium hidroksida 1 N*, campur. Didihkan campuran selama 3 menit, dinginkan, tambahkan 1 ml *asam asetat glasial P* dan 1 ml *timbal(II) asetat LP*: terbentuk endapan warna cokelat sampai hitam dari timbal(II) sulfida.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

**Rotasi jenis** <1081> Antara  $-33^\circ$  dan  $-37^\circ$ ; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml dalam *kloroform P*.

**Senyawa Merkapto Kocok** 2,0 g zat dengan 30 ml air, saring. Pada 15 ml filtrat tambahkan 3 ml *kanji LP*, titrasi dengan *iodum 0,010 N LV*. Lakukan juga pengukuran blangko sebagai koreksi: diperlukan tidak lebih dari 0,10 ml *iodum 0,010 N*.

#### Cemaran umum <481>

*Larutan baku* Gunakan *kloroform P*

*Larutan uji* Gunakan *kloroform P*.

*Fase gerak* *Butilasetat P*.

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 5.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Campuran *metanol P*-air (6:4).

*Pelarut* Campuran *asetonitril P*-air (1:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Spironolakton BPF1*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV 230 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu\text{l}$ ) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase spironolakton,  $C_{24}H_{32}O_4S$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Spironolakton BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_u$  adalah kadar spironolakton dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

#### TABLET SPIRONOLAKTON Spironolactone Tablet

Tablet Spironolakton mengandung Spironolakton,  $C_{24}H_{32}O_4S$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Spironolakton BPF1*, lakukan pengeringan pada  $105^\circ$  selama 2 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Buat campuran *kloroform P*-etil asetat *P* dan *metanol P* (2:2:1).

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Spironolakton BPF1*, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang sejumlah serbuk tablet setara dengan 100 mg spironolakton larutkan dengan 25 ml *metanol P*, kocok dan saring.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah sejumlah masing-masing 10  $\mu\text{l}$  *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi silika gel setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan

merambat hingga tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan mengering. Amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm, harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 1000 ml asam klorida 0,1 N mengandung natrium lauril sulfat P 0,1%.

*Alat tipe 2*: 75 rpm

*Waktu*: 60 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{24}H_{32}O_4S$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Spironolakton BPF1* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 242 nm. [Catatan Volume etanol P dalam larutan baku tidak lebih dari 1% dari volume akhir larutan baku yang digunakan.]

*Toleransi* Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q), spironolakton,  $C_{24}H_{32}O_4S$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Larutan baku*, dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Spironolakton*.

*Pengencer* Buat campuran asetonitril P-air (1:1).

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 10 tablet dan masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai [Catatan Kadar akhir lebih kurang 1 mg per ml.] Tambahkan sejumlah *Pengencer*, kocok selama 30 menit dan sonikasi selama 30 menit atau sampai semua tablet hancur. Dinginkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda dan sentrifus. Encerkan beningan dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan sesuai *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Spironolakton*. Hitung jumlah dalam mg spironolakton,  $C_{24}H_{32}O_4S$ , dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$CF \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Spironolakton BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $F$  adalah faktor pengenceran *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

## SPON GELATIN

### Gelatin Sponge

Spon Gelatin adalah spon dengan dasar gelatin tidak larut dalam air, mudah menyerap air, dan steril sampai wadah di buka untuk di gunakan. Dapat dibuat dengan mengaduk cepat larutan gelatin panas menjadi busa dengan porositas seragam dan dikeringkan. Busa kering dipotong-potong menjadi potongan dengan ukuran dan bentuk yang sesuai, dimasukkan ke dalam wadah akhir dan disterilkan dengan pemanasan kering.

**Pemerian Bahan** mirip busa berwarna putih atau hampir putih, liat, ringan, berpori halus, menyerap air.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air

**Arsen <321>** Tidak lebih dari 1 bpj; lakukan penetapan menggunakan 25 ml *Larutan uji* yang dibuat sebagai berikut: Pada 2,0 ml g tambahkan 10 ml air dan biarkan selama 1 jam. Hangatkan hingga larut dan tambahkan 5 ml asam klorida P dan sedikit berlebih air brom P. Tambahkan 2 ml asam klorida bertimah P, refluks selama 1 jam, dinginkan, tambahkan 10 ml asam klorida P dan encerkan dengan air hingga 50 ml.

**Tembaga** Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: Pijarkan 1,0 g dalam krus silika pada suhu tidak lebih dari 450°. Larutkan residu dalam 1 ml asam nitrat 2 M, encerkan dengan air hingga 10 ml, tambahkan amonia LP hingga larutan netral terhadap kertas lakmus P, asamkan dengan asam asetat 1 M, tambahkan 0,25 ml amonium asetat LP dan 0,1 ml larutan kalium heksasianoferat(II) P 5 %: warna yang terjadi tidak lebih tua dari warna yang terjadi dari campuran 7 ml air dan 3 ml *Larutan baku tembaga* (10 bpj Cu).

**Timbal** Tidak lebih dari 5 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut:

*Larutan uji* Pijar 5,0 g dalam krus silika pada suhu tidak lebih dari 450° hingga bebas karbon. Larutkan residu dalam campuran 0,5 ml asam nitrat P dan 5 ml air larutan amonium tiosianat P 10%, ekstraksi beberapa kali, tiap kali dengan campuran amil alkohol P-eter P volume sama hingga tidak berwarna dan buang ekstrak.

*Larutan baku* Encerkan 0,5 ml asam nitrat P dengan air hingga 40 ml dan lanjutkan seperti tertera pada *Larutan uji* mulai dari "tambahkan 5 ml larutan amonium tiosianat P 10%" dan tambahkan 2,5 ml *Larutan baku timbal* (10 bpj Pb).

*Larutan kalium sianida* Larutkan 10 g kalium sianida P dalam 90 ml air, tambahkan 2 ml larutan hidrogen peroksida P (1 dalam 5), biarkan selama 24 jam, encerkan dengan air hingga 100 ml dan saring.

*Prosedur* Masukkan secara terpisah *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam tabung Nessler, basakan dengan amonia LP dan masing-masing tambahkan 1 ml kalium sianida P; larutan tidak boleh lebih dari opalesen lemah.

Jika warna larutan berbeda, jadikan sama dengan penambahan lebih kurang 0,2 ml larutan gula karamel sangat encer atau zat non-reaktif lainnya. Encerkan dengan air hingga 50 ml, tambahkan 0,1 ml larutan *natrium sulfida P 10%* dan campur saksama. Amati dengan latar belakang putih: warna yang terjadi pada *Larutan uji* tidak lebih intensif dari *Larutan baku*.

**Zink** Tidak lebih dari 100 bpj; lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat sebagai berikut: Pijarkan 1,0 g dalam krus silika pada suhu tidak lebih dari 450°. Larutkan residu dalam 1 ml *asam nitrat 2 M* dan encerkan dengan air hingga 10 ml. Tambahkan *amoniam LP* hingga netral terhadap *kertas lakmus P*, tambahkan 2 ml *asam klorida 2 M* dan 2,5 g *amonium klorida P*, encerkan dengan air hingga 50 ml di dalam tabung Nessler, tambahkan 2 ml larutan *natrium sulfid P 20%* dan 0,1 ml larutan *kaliun heksasianoferrat(II) P 5%*; opalesen yang terjadi tidak lebih intensif dari yang dihasilkan oleh campuran 6 ml air dan 4 ml *Larutan baku zink* (25 bpj Zn) dengan cara sama.

**Formaldehida** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat sebagai berikut: Pada 500 mg zat tambahkan 100 ml air dan maserasi selama tidak kurang dari 2 jam, dengan kadang-kadang dikocok. Pipet 0,5 ml beningan ke dalam tabung reaksi bersumbat kaca, tambahkan 10 ml *asam kromatoprat LP*, renggangkan sumbat dan panaskan dalam tangas air selama 30 menit. Serapan larutan ini pada 570 nm tidak lebih dari serapan 0,5 ml *formaldehida P 0,001%* yang diperlakukan dengan cara yang sama.

**Daya serap air** Tidak kurang dari 30 kali bobot contoh uji; lakukan penetapan sebagai berikut; Timbang saksama potongan 9-10 mm bentuk kubus, celupkan ke dalam air bersuhu 20° hingga jenuh jika perlu, tekan hati-hati diantara jari, ke luar dari air dengan pinset, biarkan air mengalir sambil dipegang hati-hati dengan pinset selama 1 menit. Timbang kembali.

**Digestibilitas Waktu** digesti rata-rata 30-75 menit; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang sepotong kecil, bobot antara 45 mg dan 50 mg, basahkan seluruhnya dengan air, jika perlu tekan hati-hati di antara jari, jangan sampai sobek. Hilangkan kelebihan air dengan kertas saring, masukkan potongan ke dalam 100 ml larutan *pepsin P 1 %* dalam *asam klorida 0,1 M* yang sebelumnya telah dipanaskan dan dipertahankan pada suhu 37°, kadang-kadang goyangkan hati-hati hingga digesti sempurna. Ulangi dua kali lagi, tiap kali dengan potongan lain yang sama.

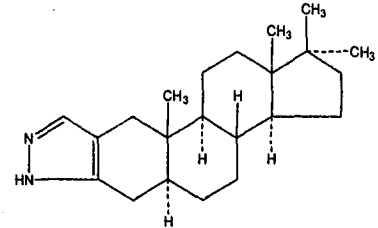
**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 2,0%.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; jika memungkinkan lakukan penetapan menggunakan seluruh isi wadah untuk setiap uji dan inkubasi selama 14 hari.

**Wadah penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari mikroorganisme.

## STANOZOLOL

### Stanozolol



2'H-5-andros-2-eno[3,2-c]pirazol-17-ol,  
17-Metil,(5 $\alpha$ ,17 $\beta$ )-17-metil-2'H-5 $\alpha$ -andros-2-eno[3,2-c]pirazol-17 $\beta$ -ol [10418-03-8]  
C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O BM 328,49

Stanozolol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur tidak berbau, dengan dua macam bentuk. Bentuk jarum melebur pada suhu lebih kurang 155°. Bentuk prisma melebur pada suhu lebih kurang 235°.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; larut dalam dimetilformamida; agak sukar larut dalam etanol dan dalam kloroform; sukar larut dalam etilasetat dan dalam aseton; sangat sukar larut dalam benzen.

**Baku pembandingan** *Stanozolol BPF1*; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 100° hingga bobot tetap, sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kaliun bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Stanozolol BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 50  $\mu$ g per ml dalam *etanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Stanozolol BPF1*; serapan masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 224 nm: berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Rotasi jenis <1081>** Antara +34° dan +40°; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml dalam *kloroform P*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 100° hingga bobot tetap.

**Kemurnian kromatografi** Tidak lebih dari 2,0%. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Campuran kloroform *P*-metanol *P* (188:12).

*Pelarut* Campuran kloroform *P*-metanol *P* (9:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Stavudin* *BPFI*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Encerkan *Larutan baku* dengan *Pelarut* hingga kadar berturut-turut: 0,05 mg; 0,1 mg; 0,2 mg, dan 0,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Pelarut* sehingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *Silika gel P* tanpa pengikat, tebal 0,25 mm, ukuran lempeng 20 x 20 cm, yang diaktifkan dengan memanaskan pada suhu 100° selama 15 menit. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dilapisi kertas saring yang telah dijenuhkan dengan 200 ml *Fase gerak* selama 15 menit, biarkan merambat 15 cm dari garis penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering. Semprot lempeng dengan *asam sulfat P* 20%, panaskan dalam oven pada suhu 100° selama 15 menit dan amati di bawah cahaya ultraviolet 366 nm. Harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan harga  $R_f$  *Larutan baku*. Jika terdapat bercak lain selain bercak utama pada *Larutan uji*, perkirakan kadar masing-masing bercak dengan membandingkan terhadap bercak *Enceran larutan baku*. Bercak yang diperoleh dari 0,4 mg; 0,2 mg; 0,1 mg; 0,05 mg per ml *Enceran larutan baku* berturut-turut setara dengan 2,0%; 1,0%; 0,5%; 0,25% cemar kromatografi.

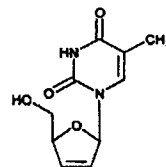
**Penetapan kadar** Timbang saksama sejumlah lebih kurang 700 mg zat, larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P*. Tambahkan 1 tetes *kristal violet LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga terjadi warna hijau. Lakukan penetapan blangko sebagai koreksi.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 32,85 mg  $C_{10}H_{12}N_2O_4$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## STAVUDIN

### Stavudine



1-(2,3-dideoksi-β-D-glisero-pent-2-enofuranosil)timin  
[3056-17-5]

$C_{10}H_{12}N_2O_4$

BM 224,21

Stavudin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{10}H_{12}N_2O_4$ , dihitung terhadap zat anhidrat dan bebas pelarut.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga hampir putih.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam dimetil asetamida dan dalam dimetil sulfoksida; agak sukar larut dalam metanol, dalam etanol dan dalam asetonitril; sukar larut dalam diklormetan; tidak larut dalam heksan.

**Baku pembanding** *Stavudin BPFI*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pembeku. *Campuran Kesesuaian Sistem Stavudin BPFI*; merupakan campuran stavudin dan senyawa sejenis lainnya seperti timidin, timin, α-stavudin dan xilotimidin. Tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti *Stavudin BPFI*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -45° dan -40°, dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,3%.

**Logam berat** <371> *Metode I* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Senyawa sejenis** Timin tidak lebih dari 0,5%; masing-masing cemar lain tidak lebih dari 0,1% dan total cemar termasuk timin tidak lebih dari 1,0%. [Catatan Semua larutan harus dibuat segera ketika akan digunakan dan disimpan di lemari pendingin sebelum digunakan.] Lakukan penetapan dengan cara

Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Amonium asetat 0,01 M Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan A Buat campuran Amonium asetat 0,01 N-asetonitril P (96,5:3,5), saring dan awaudarakan.

Larutan B Buat campuran Amonium asetat 0,01 N-asetonitril P (75:25), saring dan awaudarakan.

Fase gerak Gunakan variasi campuran Larutan A dan Larutan B seperti tertera pada Sistem kromatografi. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan kesesuaian sistem Buat larutan Campuran Kesesuaian Sistem Stavudin BPFi dalam air dengan kadar 0,5 mg per ml.

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam air hingga kadar 0,5 mg per ml.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2,1 ml per menit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Keterangan
0	100	0	kesetimbangan
0 - 10	100	0	isokratik
10 - 20	100 → 0	0 → 100	gradien linier
20 - 30	0	100	isokratik
30 - 35	0 → 100	100 → 0	gradien linier
35 - 40	100	0	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi puncak utama stavudin adalah 10,5±2 menit; waktu retensi relatif stavudin dan timin berturut-turut lebih kurang 1,0 dan 0,28; resolusi, R, antara puncak epimer timidin dan timidin tidak kurang dari 1,15 dan antara puncak stavudin dan α-stavudin tidak kurang dari 1,0; faktor kapasitas, k', tidak kurang dari 4; dan efisiensi kolom tidak kurang dari 9500 lempeng teoritis.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan kesesuaian sistem dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram hingga dua kali waktu retensi puncak utama atau sekurang-kurangnya sampai cemaran terakhir tereluasi, rekam kromatogram dan ukur respons semua puncak. Hitung persentase timin dalam zat dengan rumus:

$$100 F \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

F adalah faktor respons relatif yang setara dengan 0,69; r<sub>U</sub> adalah respons puncak timin dari Larutan uji; dan r<sub>S</sub> adalah jumlah seluruh respons puncak dari Larutan uji. Hitung persentase masing-masing cemaran lain dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

r<sub>U</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran dari Larutan uji; dan r<sub>S</sub> adalah jumlah seluruh respons puncak dari Larutan uji. Abaikan respons puncak yang lebih kecil dari 0,03%.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>. [Catatan Semua larutan harus dibuat segera pada waktu akan digunakan dan disimpan di lemari pendingin sebelum digunakan.]

Amonium asetat 0,01 N Timbang 0,77 g amonium asetat P, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml dan larutkan dalam lebih kurang 900 ml air. Encerkan dengan air sampai tanda.

Fase gerak Buat campuran Amonium asetat 0,01 N-asetonitril P (95:5), saring dan awaudarakan.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 10 mg Stavudin BPFi, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 3,3 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 0,7 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi puncak stavudin antara 2,8 dan 5,0 menit; efisiensi kolom tidak kurang dari 800 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 1,6 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg stavudin, C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$500 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Stavudin BPFi dalam mg per ml Larutan baku; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan kelembaban. Simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan antara 15° dan 30°.

## KAPSUL STAVUDIN Stavudine Capsule

Kapsul Stavudin mengandung Stavudin,  $C_{10}H_{12}N_2O_4$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Stavudin BPFI*; Tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pembeku.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Buat campuran kloroform *P*-metanol *P*-air (100:50:2).

*Larutan uji* Larutkan sejumlah isi kapsul dalam air, dengan cara sonikasi hingga kadar 0,2 mg per ml, saring. Gunakan filtrat.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi. Biarkan bercak mengering, masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga lebih kurang 10 cm dari garis penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering di udara selama 5 - 10 menit.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*, seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Rotasi jenis <1081>** Antara  $-45^\circ$  dan  $-40^\circ$ ; Lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml. Dispersikan sejumlah isi kapsul, setara dengan 200 mg stavudin, dalam 50 ml *aseton P*. Didihkan dan saring melalui penyaring dengan porositas kecil. Endapkan stavudin dengan 150 ml *heptan P*, saring hablur, cuci dengan *heptan P* dan keringkan di udara. Gunakan residu untuk penetapan rotasi jenis.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml air

*Alat tipe 2*: 75 rpm.

*Waktu*: 30 menit.

Lakukan penetapan jumlah  $C_{10}H_{12}N_2O_4$  terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Amonium asetat 0,01 N* dan *Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Stavudin BPFI*, larutkan dalam air, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar sesuai dengan *Larutan uji*.

*Larutan uji* Gunakan sejumlah alikuot yang telah disaring, jika perlu encerkan dengan air.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*, kecuali kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm. Lakukan

kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 800 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah stavudin,  $C_{10}H_{12}N_2O_4$ , yang terlarut.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q) stavudin,  $C_{10}H_{12}N_2O_4$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Air <1031>** *Metode I* Tidak lebih dari 3,5%.

**Senyawa sejenis** Timin tidak lebih dari 1,0%; masing-masing cemaran lain tidak lebih dari 0,2% dan total cemaran termasuk timin tidak lebih dari 2,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Amonium asetat 0,01 N*, *Fase gerak*, *Larutan resolusi*, dan *Larutan uji* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah timin, larutkan dalam air, sonikasi, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 1  $\mu$ g per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*, rekam kromatogram selama 2,5 kali waktu retensi stavudin dan ukur semua respons puncak. Hitung jumlah dalam mg timin dalam tiap kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$CV \left( \frac{D}{N} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume dalam ml *Larutan uji*; *D* adalah faktor pengenceran *Larutan uji*; *N* adalah jumlah kapsul yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Hitung persentase masing-masing cemaran lain tidak termasuk timin dalam kapsul, dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_S} \right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran; *r<sub>S</sub>* adalah jumlah semua respons puncak. Abaikan respons puncak yang lebih kecil dari 0,05%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Semua larutan harus dibuat segera sebelum digunakan dan simpan di lemari pendingin sebelum digunakan.]

*Amonium asetat 0,01 N* Timbang 0,77 g amonium asetat P, larutkan dalam lebih kurang 900 ml air dalam labu tentukur 1000-ml. Encerkan dengan air sampai tanda.

*Fase gerak* Buat campuran amonium asetat 0,01 N-asetonitril P (95:5), saring dan awaudarkan.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah timin dan timidin, larutkan dalam air, sonikasi, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,1 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Stavudin BPF1*, larutkan dalam air, sonikasi, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama isi tidak kurang dari 3 kapsul, larutkan dalam air, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 268 nm dan kolom 3,3 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 0,7 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara puncak timin dan timidin tidak kurang dari 2,0 dan puncak timin terpisahkan dari puncak pelarut. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: waktu retensi puncak stavudin* antara 2,8 dan 5,0 menit; efisiensi kolom tidak kurang dari 800 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 1,8 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, stavudin, C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, dalam tiap kapsul dengan rumus:

$$C \left( \frac{V}{N} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Stavudin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; V adalah volume dalam ml *Larutan uji*; N adalah jumlah kapsul yang digunakan dalam membuat *Larutan uji*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat pada suhu ruang terkendali.

## STAVUDIN UNTUK LARUTAN ORAL Stavudine for Oral Solution

Stavudin untuk larutan oral, jika direkonstitusi seperti tertera pada etiket, menghasilkan larutan 1 mg per ml yang mengandung stavudin, C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung perisa, pengawet, pemanis dan zat penstabil yang sesuai.

**Baku pembanding** *Stavudin BPF1*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pembeku.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Volume terpindahkan <1261>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 5 dan 7; konstitusikan seperti tertera pada etiket.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 2,0%.

**Senyawa sejenis** Timin tidak lebih dari 1,0%; masing-masing cemaran lain tidak lebih dari 0,2% dan total cemaran tidak lebih dari 1,5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Semua larutan uji harus dibuat segera sebelum digunakan dan simpan di lemari pendingin sebelum digunakan.]

*Larutan A, Larutan B, Larutan resolusi, Sistem kromatografi, Larutan baku dan Larutan uji* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Catat waktu retensi relatif cemaran terhadap stavudin, hitung persentase masing-masing cemaran lain dalam stavudin untuk larutan oral dengan rumus:

$$100 F \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

F adalah faktor respons relatif setara dengan 0,69 untuk timin (waktu retensi relatif lebih kurang 0,24) dan setara dengan 1,0 untuk puncak lain; r<sub>i</sub> adalah respons puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji*; r<sub>S</sub> adalah jumlah seluruh respons puncak dari *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan Semua larutan harus dibuat segera sebelum digunakan dan simpan di lemari pendingin sebelum digunakan.]

*Amonium asetat 0,025 N* Timbang 1,93 g amonium asetat P, larutkan dengan lebih kurang 900 ml air dalam

labu tentukur 1000-ml. Encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan A* Buat campuran Amonium asetat 0,025 N-metanol P (94:6), saring dan awaudarakan.

*Larutan B* Buat campuran Amonium asetat 0,025 N-metanol P (1:1), saring dan awaudarakan.

*Larutan resolusi* Buat larutan timidin dan timin dalam air, masing-masing dengan kadar lebih kurang 2,5 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Stavudin BPF1 larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume stavudin untuk larutan oral yang telah dikonstitusi seperti tertera pada etiket, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 268 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dan kolom pelindung 20 mm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml permenit. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Keterangan
0	100	0	kesetimbangan
0 - 12	100	0	isokratik
12,1	100 → 0	0 → 100	gradien bertahap
12,1 - 17	0	100	isokratik
17,1	0 → 100	100 → 0	gradien bertahap
17,1 - 35	100	0	kesetimbangan

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak timin dan timidin tidak kurang dari 8,4. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis; faktor ikutan untuk puncak stavudin tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg stavudin, C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, dalam tiap ml stavudin untuk larutan oral dengan rumus:

$$\left(\frac{C_s}{C_u}\right)\left(\frac{r_u}{r_s}\right)L$$

*C<sub>s</sub>* adalah kadar Stavudin BPF1 dalam mg per ml *Larutan baku*; *L* adalah jumlah stavudin yang tertera pada etiket, dalam mg per ml Stavudin untuk larutan oral; *C<sub>u</sub>* adalah kadar stavudin dalam mg per ml *Larutan uji*, berdasarkan jumlah stavudin yang tertera pada etiket

dalam Stavudin untuk larutan oral yang digunakan; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari kelembaban berlebih. Simpan pada suhu ruang terkontrol. Setelah dikonstitusi, simpan Stavudin untuk larutan oral dalam wadah tertutup rapat di lemari pendingin. Buang bagian yang tidak digunakan setelah 30 hari.

**Penandaan** Pada etiket dicantumkan petunjuk untuk konstitusi serbuk dan jumlah kesetaraan C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> dalam volume Stavudin untuk larutan oral yang diperoleh setelah konstitusi.

## STREPTOKINASE

### Streptokinase

Streptokinase adalah sediaan protein yang diperoleh dari filtrat biakan galur tertentu dari *Streptococcus haemolyticus* kelompok C. Sediaan ini mempunyai sifat dapat bergabung dengan plasminogen manusia membentuk aktivator plasminogen, dan dimurnikan hingga mengandung tidak kurang dari 600 Unit aktivitas streptokinase per µg nitrogen sebelum ditambahkan stabilisator atau pembawa. Biasanya mengandung dapar dan dapat distabilkan dengan penambahan senyawa yang sesuai seperti larutan Albumin.

**Pemerian** Serbuk putih atau padatan putih yang rapuh, higroskopik.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air.

### Identifikasi

A. Masukkan 0,5 ml plasma sitrat asal manusia, anjing atau kelinci dalam tabung hemolisis yang disimpan dalam tangas air pada suhu 37°. Tambahkan 0,1 ml larutan uji yang mengandung 10.000 Unit aktivitas streptokinase per ml dalam *Dapar sitrat fosfat* pH 7,2 dan 0,1 ml larutan trobin yang mengandung 20 Unit per ml dalam *dapar sitrat fosfat* pH 7,2 dan segera kocok terbentuk gumpalan dan lisis dalam 30 menit. Ulangi prosedur tersebut menggunakan plasma sapi sitrat: tidak pecah dalam 1 jam.

B. Larutkan 600 mg agar dalam 50,0 ml *Dapar barbital* pH 8,6 panaskan hingga larutan jernih. Oleskan tipis 4 ml larutan agar pada lempeng kaca (50 mm x 50 mm) dengan permukaan bebas lemak dan biarkan dingin. Buatlah lubang dengan diameter 6 mm pada bagian tengah agar dan buat sejumlah lubang (tidak lebih dari enam) pada jarak 11 mm dari lubang tengah, angkat sisa agar dengan kanula yang dihubungkan dengan pompa isap. Masukkan 80 µl serum anti streptokinase dari kambing atau kelinci yang mengandung 10.000 Unit aktivitas anti-streptokinase per ml ke dalam lubang di tengah dan 80 µl larutan uji yang mengandung



125.000 Unit aktivitas streptokinase per ml pada tiap lubang disekelilingnya. Masukkan lempeng ke dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan uap air selama 24 jam: hanya terbentuk satu endapan kasar dan jelas yang terletak antara titik penotolan serum dan tiap lubang yang mengandung *Larutan uji*.

**Keasaman-kebasaan** <1071> pH antara 6,8 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 5000 Unit per ml.

**Streptodornase** Teteskan 0,5 ml larutan natrium deoksiribonukleat 0,1% dalam *Dapar imidazol pH 6,5* ke dalam masing-masing 8 tabung sentrifuga. Ke dalam 2 tabung pertama tambahkan masing-masing 0,25 ml *Dapar imidazol pH 6,5* dan 0,25 ml larutan uji dalam *Dapar imidazol pH 6,5* yang mengandung 150.000 Unit aktivitas streptokinase per ml (larutan A), segera tambahkan 3,0 ml *asam perklorat 0,25 M*. Campur isi masing-masing tabung, sentrifus selama 5 menit pada 3000 rpm dan ukur serapan masing-masing beningan pada 260 nm. Sebagai blangko gunakan campuran 1,0 ml *Dapar imidazol pH 6,5* dan 3,0 ml *asam perklorat 0,25 M*. Jumlah dua serapan adalah A, ke dalam 6 tabung yang lain berturut-turut tambahkan 0,25 ml; 0,25 ml; 0,125 ml; 0,125 ml; 0 ml dan 0 ml *Dapar imidazol pH 6,5* lalu tambahkan 0,25 ml larutan A dan terakhir tambahkan pada tiap tabung berturut-turut 0 ml; 0 ml; 0,125 ml; 0,125 ml; 0,25 ml dan 0,25 ml larutan baku strepto-kinase-streptodornase yang mengandung 20 Unit aktivitas streptodornase per ml dalam *Dapar imidazol pH 6,5*. Campur isi masing-masing tabung, inkubasi pada 37° selama 15 menit dan tambahkan pada tiap tabung 3,0 ml *asam perklorat 0,25 M*. Campur isi masing-masing tabung, sentrifus dan ukur serapan tiap beningan pada 260 nm, sebagai blangko gunakan campuran seperti yang telah disebut di atas. Jumlah serapan beningan dalam tabung ke 3 dan ke 4 adalah  $A_2$ , beningan dalam tabung ke 5 dan ke 6 adalah  $A_3$  dan beningan dalam tabung ke 7 dan ke 8 adalah  $A_4$  ( $A_2-A_1$ ) lebih kecil dari 0,5 ( $A_3+A_4$ )- $A_2$ .

**Streptolisin** Dalam tabung hemolisis larutkan sejumlah zat uji setara dengan 500.000 unit aktivitas streptokinase dalam 0,5 ml campuran larutan *natrium klorida P 0,9%* dan *dapar fosfat sitrat pH 7,2 (9:1)* dalam tabung hemolisis. Tambahkan 0,4 ml larutan *natrium tioglukolat P 2,3%* dan inkubasikan dalam tangas air pada suhu 37° selama 10 menit. Tambahkan 0,1 ml larutan baku antistreptolisin O manusia mengandung 5 Unit per ml dan inkubasikan pada suhu 37° selama 5 menit. Tambahkan 1 ml suspensi sel darah merah kelinci, lanjutkan inkubasi selama 30 menit dan sentrifus pada lebih kurang 1000 rpm: serapan beningan pada 550 nm, tidak lebih dari 1,5 kali serapan yang diperoleh dengan mengulang prosedur di atas menggunakan 0,5 ml campuran larutan *natrium klorida P 0,9%* dan *Dapar sitrat fosfat pH 7,2* sebagai ganti larutan uji.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 4,0%; lakukan pengeringan di atas *fosfor pentoksida P* pada tekanan tidak lebih dari 0,02 mmHg 24 jam.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**Toksitas abnormal** Memenuhi uji *Toksitas abnormal* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi (in-vivo)* <251>. Gunakan larutan yang mengandung 50.000 Unit dalam 0,5 ml *Air untuk Injeksi*. Penyuntikkan harus dilakukan dalam waktu 10 detik hingga 20 detik.

**Pirogen** <211> Memenuhi syarat. Gunakan 20.000 unit per kg kelinci, larutkan dalam tidak lebih dari 1 ml *Air untuk Injeksi*.

**Penetapan potensi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Streptokinase* <171>. Perkiraan potensi tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 111% dari potensi yang tertera pada etiket. Batas kesalahan fidusial tidak kurang dari 80% dan tidak lebih dari 125% dari potensi yang tertera pada etiket.

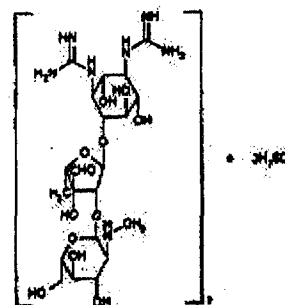
**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, disegel. Pada kondisi ini diharapkan potensinya dapat bertahan selama 3 tahun. Jika akan digunakan untuk produksi sediaan parenteral wadah harus steril.

**Penandaan** Pada penandaan dicantumkan:

1. Jumlah unit aktivitas streptokinase dalam wadah.
2. Jumlah unit aktivitas streptokinase per mg, dihitung terhadap bentuk keringnya.
3. Nama dan jumlah zat yang ditambahkan.
4. Tanggal kadaluarsa.
5. Cara penyimpanan.
6. Apakah digunakan untuk produksi sediaan parenteral atau tidak.

## STREPTOMISIN SULFAT

### Streptomycin Sulfate



*D-Streptamina, O-2-deoksi-2-(metilamino)- $\alpha$ -L-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-O-5-deoksi-3-C-formil- $\alpha$ -L-liksofuranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-N,N'-bis(aminoiminometil), sulfat (2:3)(garam)*

Streptomisin sulfat (2:3) [3810-74-0]

(C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

BM 1457,41

Streptomisin sulfat mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 650 dan tidak lebih dari 850 µg per mg streptomisin, C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>.

**Pemerian Serbuk;** putih atau praktis putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau; higroskopis tetapi stabil di udara dan pada pemaparan terhadap cahaya.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air, sangat sukar larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam kloroform.

**Baku pembanding Streptomisin Sulfat BPFi;** lakukan pengeringan pada suhu 60° pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg selama 3 jam sebelum digunakan. *Endotoksin BPFi;* [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi**

A. Larutkan 5 g besi(III) klorida P dalam 50 ml asam klorida 0,1 N. Pipet 2,5 ml larutan persediaan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam klorida 0,01 N sampai tanda. Buat pereaksi besi ini pada saat akan digunakan. Larutkan zat dalam air hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 1 mg streptomisin per ml. Ke dalam 5 ml larutan ini, tambahkan 2,0 ml natrium hidroksida 1 N dan panaskan dalam tangas air selama 10 menit. Dinginkan dalam air es selama 3 menit, tambahkan 2,0 ml asam klorida 1,2 N, campur dan tambahkan 5 ml pereaksi besi dan campur: terjadi warna violet.

B. Menunjukkan reaksi Sulfat seperti cara A, B, dan C yang tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**pH** <1071> Antara 4,5 dan 7,0; lakukan penetapan menggunakan larutan mengandung 200 mg per ml.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 5,0%; lakukan pengeringan dalam botol bertutup kapiler pada hampa udara dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan 100 mg.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan Streptomisin Sulfat Steril, harus memenuhi persyaratan Sterilitas dan Endotoksin bakteri seperti tertera pada Streptomisin untuk Injeksi. Jika pada etiket dinyatakan Streptomisin Sulfat akan digunakan untuk pembuatan sediaan injeksi, harus memenuhi persyaratan Endotoksin bakteri seperti tertera pada Streptomisin untuk Injeksi.

**Penetapan kadar** Lakukan Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Gunakan natrium hidroksida 0,070 M. Selama penggunaan, simpan dalam botol plastik yang dialiri dengan gas helium di atas permukaan cairan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Streptomisin sulfat BPFi larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar lebih kurang 0,03 mg per ml. Sonikasi selama 1 menit.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Encerkan dengan air sampai tanda, sonikasi selama 1 menit, dan campur. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Panaskan lebih kurang 10 ml Larutan baku pada suhu 75° selama 1 jam. Biarkan hingga dingin.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor elektrokimia, yaitu elektroda kerja emas dan elektroda pembanding pH Ag-AgCl, kolom pelindung 5 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L48 dan kolom analisis 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L48. Detektor elektrokimia digunakan dengan cara amperometrik terpadu dengan rentang 300 nC, luaran 1 V skala penuh, dan peningkatan waktu 0,5 detik, polaritas positif. Tegangan diprogram sebagai berikut:

Langkah	Waktu(detik)	Tegangan (V)	Integrasi
1	0,00	+0,1	
2	0,20	+0,1	Mulai
3	0,40	+0,1	Akhir
4	0,41	-2,0	
5	0,42	-2,0	
6	0,43	+0,6	
7	0,44	-0,1	
8	0,50	-0,1	

Laju alir lebih kurang 0,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif untuk hasil uraian utama 0,5 dan untuk streptomisin 1,0; resolusi, R, antara dua puncak tidak kurang dari 3. Lakukan kromatograf terhadap Larutan baku, ukur luas puncak seperti tertera pada Prosedur; faktor ikutan pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2; efisiensi kolom tidak kurang dari 1000 lempeng teoritis; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5%. [Catatan Jika terjadi perbedaan waktu retensi atau peningkatan faktor ikutan, bersihkan kolom dengan natrium hidroksida 0,2 M. Hati-hati saat menggunakan elektroda kerja dan elektroda pembanding.]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, ukur luas puncak utama. Hitung jumlah dalam µg streptomisin, C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>, dalam tiap mg Streptomisin sulfat dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{CP}{W_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar dalam mg per ml *Streptomisin Sulfat BPFi* dalam *Larutan baku*; *P* adalah kandungan streptomisin dalam µg per mg streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , dalam *Streptomisin Sulfat BPFi*;  $W_U$  adalah bobot dalam mg streptomisin sulfat yang digunakan dalam pembuatan *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak streptomisin *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**Penandaan** Jika digunakan dalam pembuatan sediaan injeksi, pada etiket dicantumkan steril atau akan digunakan dalam proses pembuatan sediaan injeksi.

## INJEKSI STREPTOMISIN Streptomycin Injection

Injeksi Streptomisin mengandung Streptomisin Sulfat setara dengan streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Streptomisin Sulfat BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dalam tempat dingin. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

**Pereaksi besi** Larutkan 5 g besi(III) klorida *P* dalam 50 ml asam klorida 0,1 *N*. Pipet 2,5 ml larutan persediaan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam klorida 0,01 *N* sampai tanda. Buat **Pereaksi besi** ini tepat saat digunakan.

**Larutan uji** Larutkan dan encerkan zat dalam air hingga diperoleh larutan yang mengandung streptomisin lebih kurang 1 mg per ml.

**Prosedur** Pada 5 ml *Larutan uji*, tambahkan 2,0 ml natrium hidroksida 1 *N* dan panaskan dalam tangas air selama 10 menit. Dinginkan dalam air es selama 3 menit, tambahkan 2,0 ml asam klorida 1,2 *N*, campur. Tambahkan 5 ml **Pereaksi besi**, campur, terjadi warna violet.

**Endotoksin bakteri** <81> Mengandung tidak lebih dari 0,25 unit Endotoksin FI per mg.

**pH** <791> Antara 5,0 dan 8,0.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Sterilitas* seperti tertera pada *Streptomisin untuk Injeksi*. Memenuhi syarat lain dalam *Injeksi*.

### Penetapan kadar

**Fase gerak**, *Larutan uji*, *Larutan kesesuaian sistem*, dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Streptomisin Sulfat*.

**Larutan uji** Ukur secara saksama sejumlah volume injeksi setara 500 mg streptomisin, masukkan ke dalam 500-ml.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Streptomisin Sulfat*. Hitung jumlah dalam mg, streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , dalam tiap ml volume injeksi dengan rumus:

$$20 \left( \frac{CP}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Streptomisin Sulfat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah kandungan streptomisin dalam µg per mg streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , dalam *Streptomisin Sulfat BPFi*; *V* adalah volume injeksi dalam ml yang digunakan dalam *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, gunakan kaca Tipe I.

## STREPTOMISIN SULFAT UNTUK INJEKSI Streptomycin Sulfate for Injection

$(C_{21}H_{39}N_7O_{12})_2 \cdot 3H_2SO_4$

BM 1457,41

Streptomisin Sulfat untuk Injeksi mengandung Streptomisin Sulfat, setara dengan streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 115% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

**Baku pembanding** *Streptomisin Sulfat BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 60° pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg selama 3 jam sebelum digunakan. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Larutan terkonstitusi** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Larutan terkonstitusi dalam Injeksi*.

### Identifikasi

A. Larutkan 5 g besi(III) klorida *P* dalam 50 ml asam klorida 0,1 *N*. Pipet 2,5 ml larutan persediaan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam klorida 0,01 *N* sampai tanda. Buat **pereaksi besi** ini pada saat akan digunakan. Larutkan zat dalam air hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 1 mg streptomisin per ml. Ke dalam 5 ml larutan ini,

tambahkan 2,0 ml *natrium hidroksida 1 N* dan panaskan dalam tangas air selama 10 menit. Dinginkan dalam air es selama 3 menit, tambahkan 2,0 ml *asam klorida 1,2 N*, campur dan tambahkan 5 ml *pereaksi besi* dan campur: terjadi warna violet.

B. Menunjukkan reaksi *Sulfat* seperti cara *A, B, dan C* yang tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 0,25 unit Endotoksin FI per mg.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat; lakukan pengujian dengan *Prosedur uji menggunakan penyaringan membran*.

**pH <1071>** Antara 4,5 dan 7,0; lakukan penetapan menggunakan larutan mengandung 200 mg per ml.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 5,0%; lakukan pengeringan dalam botol bertutup kapiler pada hampa udara dengan tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam, menggunakan 100 mg.

**Syarat lain** Jika pada etiket dinyatakan Streptomisin Sulfat Steril, harus memenuhi persyaratan *Sterilitas* dan *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Streptomisin untuk Injeksi*. Jika pada etiket dinyatakan Streptomisin Sulfat akan digunakan untuk pembuatan sediaan injeksi, harus memenuhi persyaratan *Endotoksin bakteri* seperti tertera pada *Streptomisin untuk Injeksi*. Juga memenuhi syarat *Keseragaman Sediaan <911>* dan *Penandaan dalam Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan baku, Larutan kesesuaian system, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Streptomisin sulfat*.

*Larutan uji I* (bila dikemas dalam wadah dosis tunggal). Konstitusikan Sterptomisin untuk injeksi dalam sejumlah air yang diukur saksama hingga volume yang tertera pada etiket. Ambil seluruh larutan konstitusi dengan jarum hipodermik dan alat suntik yang sesuai, jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga kadar streptomisin lebih kurang 0,025 mg per ml.

*Larutan uji II* (bila etiket mencantumkan bobot zat dalam volume tertentu larutan terkonstitusi). Konstitusikan Streptomisin untuk injeksi dalam sejumlah air yang di ukur saksama hingga volume yang tertera pada etiket. Pipet sejumlah volume larutan konstitusi, jika perlu encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan air hingga kadar streptomisin lebih kurang 0,025 mg per ml.

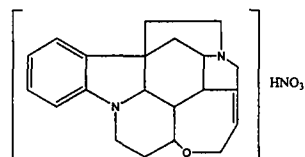
*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Streptomisin sulfat*. Hitung jumlah dalam mg, streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , dalam larutan injeksi yang digunakan atau bagian larutan terkonstitusi yang di gunakan dengan rumus :

$$\left(\frac{CP}{1000}\right)\left(\frac{L}{D}\right)\left(\frac{r_u}{r_s}\right)$$

L adalah jumlah dalam mg stresptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , yang tertera dalam etiket atau dalam volume larutan terkonstitusi yang di gunakan; D adalah kadar streptomisin dalam mg per ml *Larutan uji I* atau *Larutan uji II* berdasarkan jumlah yang tertera dalam etiket atau dalam volume terkonstitusi yang di gunakan; C adalah *Streptomisin sulfat BPF I* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah kandungan streptomisin dalam  $\mu\text{g}$  per mg streptomisin,  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ , dalam *Streptomisin sulfat BPF I*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak streptomisin dalam *Larutan baku* dan *Larutan uji I* atau *Larutan uji II*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah seperti tertera pada *Wadah untuk padatan steril dalam Injeksi*.

### STRIKNIN NITRAT Strychnine Nitrate



$C_{21}H_{22}N_2O_2 \cdot HNO_3$

BM 397,44

Striknin Nitrat mengandung tidak kurang dari 99,0%,  $C_{21}H_{22}N_2O_2 \cdot HNO_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur jarum; tidak berwarna atau serbuk hablur putih; rasa sangat pahit.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air, dalam gliserol; larut dalam air panas; sukar larut dalam etanol, dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

#### Identifikasi

A. Pada 1 ml larutan 1% tambahkan 2 ml *asam klorida P*, panaskan: terjadi warna merah.

B. Pada 1 ml larutan 1% tambahkan beberapa tetes larutan *kalium bikromat P 7,0%*: terbentuk endapan hablur kuning, cuci endapan dengan air, pindahkan ke dalam cawan, tambahkan beberapa tetes *asam sulfat P*: terjadi warna biru lembayung yang tidak mantap.

C. Larutan 2 % menunjukkan reaksi *Nitrat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Klorida <361>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan 1,5 g.

**Sulfat** Larutkan 50 mg dalam 5 ml air, asamkan dengan asam klorida P, tambahkan beberapa tetes larutan barium klorida P 15%, biarkan selama 10 menit: tidak terjadi kekeruhan.

**Susut pengeringan** <1121> tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,25%.

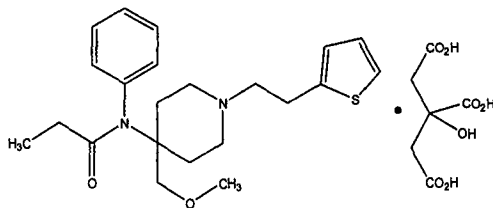
**Brusin** Pada 10 ml tambahkan 5 ml asam nitrat P: campuran tidak berwarna merah.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat; masukkan ke dalam corong pisah, tambahkan 40 ml air dan 12,5 ml amonia LP. Ekstraksi 5 kali, tiap kali dengan 25 ml kloroform P. Cuci tiap ekstrak dengan 20 ml air yang sama yang terdapat dalam corong pisah kedua. Uapkan kumpulan ekstrak di atas tangas air hingga 5 ml. Tambahkan 5 ml etanol P, uapkan di atas tangas air hingga kering, dan keringkan pada suhu 105° selama 30 menit. Basahi residu dengan 1 ml etanol P, tambahkan 20,0 ml asam sulfat 0,1 N LV, hangatkan hingga larut, dinginkan. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV menggunakan indikator 3 tetes merah metil LP.

Tiap ml asam sulfat 0,1 N setara dengan 39,744 mg  $C_{21}H_{22}N_2O_2.HNO_3$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**SUFENTANIL SITRAT**  
**Sufentanil Citrate**



*N*-[4-(Metoksimetil)-1-[2-(tiofen-2-il)etil]piperidin-4-il]-*N*-fenilpropanamid sitrat [60561-17-3]  
 $C_{22}H_{30}N_2O_2S.C_6H_8O_7$  BM 578,69

Sufentanil sitrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{22}H_{30}N_2O_2S.C_6H_8O_7$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. [Perhatian Hati-hati dalam menangani Sufentanil Sitrat karena berpotensi sebagai analgesik opioid. Hindarkan terhirupnya partikel sufentanil sitrat dan paparan pada kulit.]

**Pemerian** Serbuk putih.

**Kelarutan** Larut dalam air; mudah larut dalam metanol; agak sukar larut dalam aseton, dalam etanol dan dalam kloroform; melebur antara 133° dan 140°.

**Baku pembandingan Sufentanil Sitrat BPFI**; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Sufentanil Sitrat BPFI.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 20.000) dalam campuran metanol P-amonium asetat 0,13 *N*-asetonitril P (45:31:24) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Sufentanil Sitrat BPFI.

C. Larutkan lebih kurang 500 mg zat dalam 5 ml air, basakan dengan larutan natrium hidroksida 1 N. Ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 5 ml diklorometan P: lapisan air menunjukkan reaksi Sitrat seperti tertera pada Uji identifikasi umum <291>.

D. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 2 jam. [Catatan Sisa zat yang telah dikeringkan digunakan untuk uji Logam berat.]

**Logam berat** <371> Metode III Tidak lebih dari 20 bpj. Lakukan penetapan menggunakan sisa zat yang telah dikeringkan pada uji Susut pengeringan.

**Aseton** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Pipet 25 µl aseton P ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan dimetilformamida P sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukan ke dalam vial berlapis politef bertutup ulir, larutkan dalam 2,0 ml dimetilformamida P.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 1,83 m x 4 mm berisi bahan penyangga S2. Gunakan nitrogen P sebagai pembawa dengan laju alir lebih kurang 50 ml per menit. Pertahankan suhu injektor dan detektor pada 230°. Pertahankan suhu kolom pada 175°. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif respons puncak aseton pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 2 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. [Catatan Setelah penyuntikan *Larutan uji*, biarkan selama lebih kurang 25 menit sampai puncak *sufentanil sitrat* tereluasi sempurna dari kolom.] Hitung persentase aseton dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar aseton dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar zat dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak aseton dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,5%; total cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Blangko* Timbang saksama 33,2 mg asam sitrat P, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang lebih kurang 7,5 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Blangko* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran, (abaikan beberapa puncak yang sesuai dengan puncak *Blangko*) dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran; dan  $r_s$  adalah jumlah seluruh respons puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran metanol P-amonium asetat 0,13 N-asetonitril P (45:31:24). Atur pH hingga 7,2 dengan penambahan asam asetat glasial P atau amonium hidroksida P, saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sufentanil Sitrat BPF1*, larutkan, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,075 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 18,7 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet

5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 228 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, *sufentanil sitrat*,  $C_{22}H_{30}N_2O_2S.C_6H_8O_7$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$250C \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Sufentanil Sitrat BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik pada suhu 25°, masih diperbolehkan pada suhu antara 15° dan 30°.

## INJEKSI SUFENTANIL SITRAT Sufentanil Citrate Injection

Injeksi *Sufentanil Sitrat* adalah larutan steril *sufentanil sitrat* dalam air untuk injeksi. Mengandung *Sufentanil Sitrat*,  $C_{22}H_{30}N_2O_2S.C_6H_8O_7$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. [Perhatian Hati-hati dalam menangani Injeksi *Sufentanil Sitrat* karena berpotensi sebagai analgesik opioid.]

**Baku pembanding** *Sufentanil Sitrat BPF1*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Endotoksin BPF1*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isiharus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 20.000) dalam campuran metanol P-amonium asetat 0,13 N-asetonitril P (45:31:24) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sufentanil Sitrat BPF1*. [Catatan Untuk contoh yang tidak memerlukan pengenceran, gunakan

larutan baku dengan kadar 50 µg per ml dalam Air untuk injeksi.]

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

Endotoksin bakteri <201> Tidak lebih dari 6,25 unit Endotoksin FI per ml injeksi.

pH <1071> Antara 3,5 dan 6,0.

Bahan partikulat <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi volume kecil.

Syarat lain Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kemurnian kromatografi dalam Sufentanil Sitrat.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Sufentanil Sitrat BPF1, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 0,075 mg per ml.

Larutan uji Gunakan injeksi sufentanil sitrat.

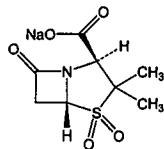
Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 100 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, sufentanil, C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S, dalam tiap ml injeksi dengan rumus:

$$C \left( \frac{386,56}{578,69} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

386,56 dan 578,69 berturut-turut adalah bobot molekul sufentanil dan sufentanil sitrat; C adalah kadar Sufentanil Sitrat BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I.

### SULBAKTAM NATRIUM Sulbactam Sodium



Natrium (2S,5R)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisisklo [3,2,0]heptan-2-karboksilat 4,4-dioksida [69388-84-7]  
C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>NNaO<sub>5</sub>S BM 255,22

Sulbaktam Natrium mengandung tidak kurang 886 µg dan tidak lebih dari 941 µg sulbaktam (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>S) per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.

Pemerian Serbuk hablur; putih sampai hampir putih.

Kelarutan Larut dalam air, dan dalam asam encer; agak sukar larut dalam aseton, dalam etil asetat dan dalam kloroform.

Baku pembanding Sulbaktam BPF1, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan dalam lemari pembeku. Endotoksin BPF1 [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Waktu retensi relatif puncak utama pada kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

B. Memenuhi persyaratan uji Natrium <351>.

Sifat hablur <1091> Memenuhi syarat.

Endotoksin bakteri <201> Tidak lebih dari 0,17 unit Endotoksin FI per mg sulbaktam, jika pada etiket dinyatakan bahwa sulbaktam natrium steril atau harus dilakukan proses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi.

Sterilitas <71> Memenuhi syarat; jika pada etiket dinyatakan bahwa sulbaktam natrium steril, lakukan penetapan dengan metode Penyaringan membran seperti tertera pada Uji Sterilitas.

Air <1031> Metode I Tidak lebih dari 1,0%.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Tetrabutylamonium hidroksida 0,005 M Encerkan 6,6 ml Larutan tetrabutylamonium hidroksida 40% dengan air hingga 1800 ml. Atur pH hingga 5,0±0,1 dengan penambahan asam fosfat 1 M, encerkan dengan air hingga 2000 ml.

Fase gerak Buat campuran tetrabutylamonium hidroksida 0,005 M-asetonitril P (1650:350), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Sulbaktam BPF1, larutkan dalam Fase gerak hingga kadar lebih

kurang 1 mg per ml. [Catatan Suntikkan larutan ini segera.]

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 110 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. [Catatan Suntikkan larutan ini segera]

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 230 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom tidak kurang dari 3500 lempeng teoritis; faktor ikutan tidak lebih dari 1,5; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg, sulbaktam, C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>S, dalam tiap mg zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

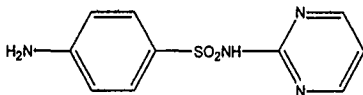
C adalah kadar Sulbaktam BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; P adalah kadar sulbaktam dalam µg per mg Sulbaktam BPF1; W adalah bobot sulbaktam natrium, dalam mg, yang digunakan untuk membuat Larutan uji; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak sulbaktam yang diperoleh dari Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat.

Penandaan Jika dimaksudkan untuk digunakan dalam pembuatan sediaan injeksi, pada etiket harus tercantum steril atau harus dilakukan proses lebih lanjut selama pembuatan sediaan injeksi.

### SULFADIAZIN

#### Sulfadiazine



N<sup>1</sup>-2-Pirimidinilsulfanilamida [68-35-9]

C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S

BM 250,28

Sulfadiazin mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Serbuk, putih sampai agak kuning; tidak berbau atau hampir tidak berbau; stabil di udara tetapi pada pemaparan terhadap cahaya perlahan-lahan menjadi gelap.

Kelarutan Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam asam mineral encer, dalam larutan kalium hidroksida, dalam larutan natrium hidroksida dan dalam amonium hidroksida; agak sukar larut dalam etanol; sukar larut dalam etanol dan dalam aseton; sukar larut dalam serum manusia pada suhu 37°.

Baku pembanding Sulfadiazin BPF1; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam, sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti Sulfadiazin BPF1.

B. Lelehkan dengan hati-hati lebih kurang 50 mg zat dalam tabung reaksi kecil: terjadi warna cokelat kemerahan. Uap yang timbul selama peruraian tidak menghitamkan kertas timbal(II) asetat P yang telah dilembabkan (perbedaan dengan sulfatiazol).

C. Panaskan perlahan-lahan lebih kurang 1 g zat dalam tabung reaksi kecil sampai terjadi sublimasi. Kumpulkan beberapa mg sublimat dengan batang pengaduk dan campur dalam tabung reaksi dengan 1 ml larutan resorsinol P (1 dalam 20) dalam etanol P. Tambahkan 1 ml asam sulfat P, campur dengan pengocokan: segera terjadi warna merah tua. Encerkan hati-hati dengan 25 ml air es dan tambahkan amonium hidroksida 6 N berlebih: terjadi warna biru atau biru kemerahan.

Keasaman Digesti 2,00 g zat dengan 100 ml air pada suhu lebih kurang 70° selama 5 menit. Dinginkan segera hingga suhu ruang, saring. Pada 25,0 ml filtrat, tambahkan 2 tetes fenolftalein LP dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV hingga terjadi warna merah muda: diperlukan tidak lebih dari 0,20 ml.

Kejernihan dan warna larutan Larutkan 1 g zat dalam campuran 20 ml air dan 5 ml natrium hidroksida 1 N larutan jernih dan warna tidak lebih tua dari kuning pucat.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Selenium <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg zat.

Logam berat <371> Metode III Tidak lebih dari 20 bpj.

#### Cemaran umum <481>

Larutan uji Larutkan sejumlah zat dalam campuran toluen P-dimetilformamida P (2:1) hingga kadar 8,3 mg per ml.



*Larutan baku* Larutkan sejumlah Sulfadiazin BPF1 dalam campuran toluen P-dimetilformamida P (2:1) hingga kadar 170 µg; 80 µg; 41 µg dan 8 µg per ml.

*Fase gerak* Buat campuran kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P (30:12:1).

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 11.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril P-asam asetat glasial P (87:12:1), awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Sulfadiazin BPF1, larutkan dalam natrium hidroksida 0,025 N hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan natrium hidroksida 0,025 N sampai tanda, campur.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi LI. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: faktor ikutan puncak sulfadiazin tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfadiazin, C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

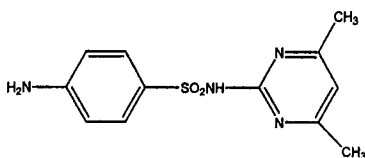
C adalah kadar Sulfadiazin BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## SULFADIMIDIN

Sulfadimidine

Sulfametazin



N<sup>1</sup>-(4,6-Dimetil-2-pirimidinil)sulfanilamida [57-68-1]  
C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S BM 278,33

Sulfadimidin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk, putih sampai putih kekuningan; dapat menjadi gelap pada pemaparan terhadap cahaya; rasa agak pahit; praktis tidak berbau

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air dan dalam eter; larut dalam aseton; sukar larut dalam etanol

**Baku pembanding** Sulfadimidin BPF1; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Sulfadimidin BPF1.

B. Pada 100 mg tambahkan 10 ml air dan larutan natrium hidroksida P (1 dalam 250) secukupnya hingga memberikan warna merah muda pada kertas fenolftalein P. Tambahkan 5 tetes tembaga(II) sulfat P: terbentuk endapan kuning hijau yang berubah menjadi cokelat bila dibiarkan

**Keasaman Ekstraksi** 3,0 g dalam 150 ml air bebas karbon dioksida P pada suhu 70° selama lebih kurang 5 menit, aduk sesekali agar tetap terbentuk suspensi. Dinginkan dengan cepat dalam tangas es hingga suhu 20°±0,5°, dengan pengadukan mekanik. Saring segera menggunakan pompa isap, tanpa pencucian keringkan endapan dengan saksama dengan pengisapan. Tambahkan 2 tetes timolftalein LP pada 25,0 ml filtrat dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV. Pada 25,0 ml filtrat kedua tambahkan 10 ml asam klorida P. Dinginkan hingga 15° dan titrasi dengan natrium nitrit 0,1 MLV seperti cara yang tertera pada Titrasi Nitrimetri <701>: perbedaan volume natrium hidroksida 0,1 N yang digunakan dengan volume natrium nitrit 0,1 M yang digunakan tidak lebih dari 0,5 ml.

**Kejernihan dan warna larutan** Larutkan 1,0 g zat dalam campuran 20 ml air dan 5 ml natrium hidroksida 1 N: larutan jernih dan warna tidak lebih tua dari kuning pucat.

**Jarak lebur** <1021> Antara 197° dan 200°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5 %; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam, menggunakan lebih kurang 1,0 g yang ditimbang saksama.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Selenium <391>** Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Cemaran umum <481>**

*Larutan uji* Gunakan pelarut *aseton P*

*Larutan baku* Gunakan pelarut *aseton P*

*Fase gerak* Buat campuran etil asetat *P*-metanol *P*-amonium hidroksida *P* (17:6:5)

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampakan bercak nomor 11.

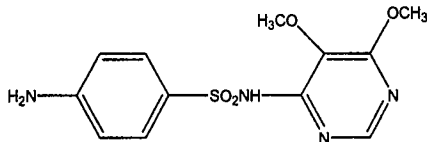
**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Titrasasi Nitrimetri <701>*.

Tiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 27,83 mg  $C_{12}H_{14}N_4O_4S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## SULFADOKSIN

### Sulfadoxine



*N*-(5,6-Dimetoksi-4-pirimidinil)sulfanilamida [2447-57-6]

$C_{12}H_{14}N_4O_4S$

BM 310,33

Sulfadoksin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Baku pembanding** *Sulfadoksin BPF1*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sulfadoksin BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 6 µg per ml dalam *natrium hidroksida 0,1 N* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sulfadoksin BPF1*.

C. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Jarak lebur <1021>** Antara 197° dan 200°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran kloroform *P*-metanol *P*-dimetilformamida *P* (20:2:1).

*Penampak bercak* Larutan asam sulfat *P* dalam etanol *P* (1 dalam 10).

*Pelarut* Campuran etanol *P*-amonium hidroksida *P* (9:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sulfadoksin BPF1*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 0,10 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak* dan aliri dengan uap nitros yang dibuat dengan penambahan asam sulfat 7 M tetes demi tetes ke dalam larutan yang mengandung *natrium nitrit P* 10 % dan *kalium iodida P* 3%. Keringkan lempeng pada aliran udara hangat selama 15 menit dan semprot dengan larutan *N*-(1-naftil) etilendiamin dihidroklorida (1 dalam 200) dalam *etanol P*. Tidak ada bercak, selain bercak utama, pada *Larutan uji*, yang lebih besar ukuran dan intensitasnya dari bercak *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan asam fosfat 0,1%* Tambahkan 1 ml asam fosfat *P* ke dalam air dan encerkan sampai 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan asam fosfat 0,1%* - *asetonitril P* (83:17), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Sulfadoksin BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dengan *asetonitril P* sampai lebih kurang 17% dari volume akhir, lalu encerkan dengan *Larutan asam fosfat 0,1%* sampai tanda untuk memperoleh larutan dengan kadar sulfadoksin lebih kurang 0,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dalam *asetonitril P* sampai lebih kurang 17% dari volume akhir, lalu encerkan dengan *Larutan asam fosfat 0,1%* sampai tanda untuk memperoleh larutan dengan kadar sulfadoksin lebih kurang 0,4 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 230 nm dan kolom 10 cm x 2 mm berisi bahan pengisi *L11* dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 0,3 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan puncak sulfadiazin tidak lebih dari 1,8 dan simpangan baku relatif pada 5 kali penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase, sulfadoksin, C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S, dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar *Sulfadiazin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; C<sub>u</sub> adalah kadar zat dalam mg per ml *Larutan uji*; r<sub>u</sub> dan r<sub>s</sub> berturut-turut adalah respon puncak sulfadiazin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

### TABLET SULFADOKSIN DAN PIRIMETAMIN Sulfadoxine and Pyrimethamine Tablet

Tablet Sulfadoksin dan Pirimetamin mengandung Sulfadoksin, C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S, dan Pirimetamin, C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub>, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pbanding** *Sulfadoksin BPFi*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Pirimetamin BPFi*, lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Waktu retensi relatif puncak sulfadoksin dan pirimetamin, terhadap baku internal pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Buat campuran *heptan P-kloroform P-larutan metanol P dalam etanol P (1:20)-asam asetat glasial P (4:4:1)*.

*Larutan baku sulfadoksin* Timbang *Sulfadoksin BPFi*, larutkan dan encerkan dengan campuran *amonium hidroksida P-metanol P (1:50)* hingga kadar lebih

kurang 10 mg per ml. Kocok kuat selama 3 menit, dan saring.

*Larutan baku pirimetamin* Timbang *Pirimetamin BPFi*, larutkan dan encerkan dengan campuran *amonium hidroksida P-metanol P (1:50)* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml. Kocok kuat selama 3 menit, dan saring.

*Larutan uji* Kocok kuat lebih kurang 700 mg serbuk tablet dalam 50 ml campuran *amonium hidroksida P-metanol P (1:50)* selama 3 menit, dan saring.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku sulfadoksin*, *Larutan baku pirimetamin* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel* setebal 0,25 mm. Keringkan bercak dengan udara hangat dan masukkan lempeng dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga dua per tiga tinggi lempeng, angkat lempeng, tandai batas rambat dan keringkan. Amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm: harga R<sub>f</sub> bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 1000 ml dapar fosfat pH 6,8.

*Alat tipe 2*: 75 rpm.

*Waktu*: 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S dan C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub> yang terlarut seperti tertera pada *Penetapan kadar*, jika perlu lakukan modifikasi.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 60% (Q), sulfadoksin, C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S, dan pirimetamin, C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub>, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat keseragaman kandungan untuk sulfadoksin dan pirimetamin.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran larutan *asam asetat glasial P (1 dalam 100)-asetonitril P (4:1)*, saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku internal* Timbang sejumlah fenasetin larutkan dalam *asetonitril P* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama lebih kurang 500 mg *Sulfadoksin BPFi* dan 25 mg *Pirimetamin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam 35 ml *asetonitril P*, dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan baku 1* Pipet 25 ml *Larutan baku persediaan* dan 2 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Pipet 2 ml *Larutan baku persediaan* dan 10 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 250-ml. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

Larutan uji persediaan Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 500 mg sulfadoksin dan 25 mg pirimetamin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 35 ml *asetonitril P* dan kocok selama 30 menit. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, dan saring.

Larutan uji 1 Pipet 25 ml Larutan uji persediaan ke dalam labu tentukur 50-ml. Tambahkan 2,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

Larutan uji 2 Pipet 2 ml Larutan uji persediaan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan 10,0 ml Larutan baku internal dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan lima kali penyuntikan Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,5%; resolusi, *R*, antara sulfadoksin dan fenasetin serta antara pirimetamin dan fenasetin berturut-turut tidak kurang dari 1,0 dan 1,0; waktu retensi relatif sulfadoksin, fenasetin dan pirimetamin berturut-turut adalah lebih kurang 0,7; 1,0; dan 1,3.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku 1, Larutan baku 2, Larutan uji 1 dan Larutan uji 2 ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfadoksin, C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$12,5C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

C adalah kadar Sulfadoksin BPF1 dalam µg per ml Larutan baku 2; R<sub>U</sub> dan R<sub>S</sub> berturut-turut adalah perbandingan respons puncak sulfadoksin terhadap baku internal dalam Larutan uji 2 dan Larutan baku 2. Hitung jumlah dalam mg pirimetamin, C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>CIN<sub>4</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

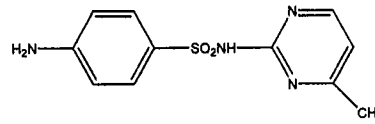
$$0,2C' \left( \frac{R_U'}{R_S'} \right)$$

C' adalah kadar Pirimetamin BPF1 dalam mg per ml Larutan baku 1; R<sub>U</sub>' dan R<sub>S</sub>' berturut-turut adalah perbandingan respons puncak pirimetamin terhadap baku internal dalam Larutan uji 1 dan Larutan baku 1.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik dan tidak tembus cahaya.

## SULFAMERAZIN

### Sulfamerazine



N<sup>1</sup>-(4-metil-2-pirimidinil) sulfanilamida [127-79-7]  
C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S BM 264,30

Sulfamerazin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Pemerian Serbuk atau hablur; putih atau agak putih kekuningan; tidak berbau atau praktis tidak berbau; rasa agak pahit; stabil diudara, tetapi perlahan-lahan menjadi gelap pada pemaparan terhadap cahaya.

Kelarutan Sangat sukar larut dalam air; agak sukar larut dalam aseton; sukar larut dalam etanol; sangat sukar larut dalam eter dan dalam kloroform.

Baku pembandingan Sulfamerazin BPF1; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada sulfamerazin BPF1.

B. Pada 20 mg suspensi zat dalam 5 ml air, tambahkan tetes demi tetes natrium hidroksida 1 N sampai larut, kemudian tambahkan 3 tetes tembaga(II) sulfat LP; terbentuk endapan hijau pudar dan berubah menjadi abu-abu gelap jika didiamkan.

Keasaman-kebasaan Ekstraksi 2,0 g zat dengan 100 ml air pada suhu lebih kurang 70° selama 5 menit, dinginkan hingga suhu lebih kurang 20° dan saring. Pada 25 ml filtrat tambahkan 2 tetes fenolftalein LP dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV; diperlukan tidak lebih dari 0,50 ml untuk menghasilkan warna merah muda.

Kerjenihan dan warna larutan Larutkan 1,0 g dalam campuran 20 ml air dan 5 ml natrium hidroksida 1 N; terbentuk larutan jernih dan berwarna tidak lebih tua dari kuning pucat.

Jarak lebur <1021> Antara 234° dan 239°.

Susut Pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Selenium <391>** Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Cemaran umum <481>**

*Larutan uji* gunakan pelarut *dioksan P*.

*Larutan baku* gunakan pelarut *dioksan P*.

*Fase gerak* Buat campuran *kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P* (30:12:1).

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

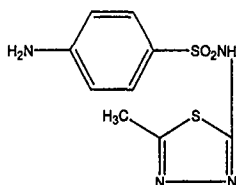
**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Titration Nitrimetri <701>*.

Tiap ml *natrium nitrit 0,1 M*  
setara dengan 26,43 mg  $C_{11}H_{12}N_4O_2S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah baik, tidak tembus cahaya

## SULFAMETIZOL

### Sulfamethizole



*N*<sup>1</sup>-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il) sulfanilamida [144-82-1]  
 $C_9H_{10}N_4O_2S_2$  BM 270,32

Sulfametizol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_9H_{10}N_4O_2S_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; rasa agak pahit; praktis tidak berbau; tidak berbau hidrogen sulfida.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air, dalam kloroform dan dalam eter; sangat mudah larut dalam amonium hidroksida, dalam kalium hidroksida dan natrium hidroksida; larut dalam asam mineral encer dan dalam aseton; agak sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam benzen.

**Baku pembanding** *Sulfametizol BPHI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *sulfametizol BPHI*.

B. Pada lebih kurang 100 mg zat tambahkan 5 ml *asam klorida 3 N*, dididihkan perlahan selama 5 menit. Dinginkan dalam tangas es, tambahkan 4 ml larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 100), tambahkan air hingga 10 ml, kemudian letakkan dalam tangas es selama 10 menit. Ke dalam 5 ml campuran yang telah didinginkan, tambahkan larutan 50 mg *2-naftol P* dalam 2 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10): terbentuk endapan merah jingga dan akan menjadi lebih gelap jika didiamkan.

C. Suspensikan lebih kurang 20 mg zat dalam 5 ml air, tambahkan tetes demi tetes *natrium hidroksida 1 N* sampai larut, kemudian tambahkan 2 atau 3 tetes *tembaga(II) sulfat LP*: terbentuk endapan hijau terang dan tidak berubah bila didiamkan.

D. Waktu retensi puncak utama kromatogram yang diperoleh dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Keasaman** Ekstrasi 2,0 g zat dengan 100 ml air pada suhu lebih kurang 70° selama 5 menit, dinginkan segera hingga suhu lebih kurang 20°, saring. Pada 25,0 ml filtrat tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,10 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 0,50 ml untuk menetralkan larutan. Simpan sisa filtrat untuk uji *Klorida* dan *sulfat*.

**Kejernihan dan warna larutan** Larutkan 1,0 g zat dalam 20 ml air dan 5 ml *natrium hidroksida 1 N*: larutan jernih dan tidak lebih tua dari kuning pucat.

**Jarak lebur <1021>** Antara 208° dan 212°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Klorida <361>** Tidak lebih dari 0,014%; lakukan penetapan menggunakan 25,0 ml filtrat yang diperoleh dari uji *Keasaman*: tidak lebih keruh dari 0,10 ml *asam klorida 0,020 N* yang diperlakukan sama.

**Sulfat <361>** Tidak lebih dari 0,04%; lakukan penetapan menggunakan 25,0 ml filtrat yang diperoleh dari uji *Keasaman*: tidak lebih keruh dari 0,20 ml *asam sulfat 0,020 N* yang diperlakukan sama.

**Selenium <391>** Tidak lebih dari 30 bpj.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Cemaran umum <481>**

*Larutan uji* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Larutan baku* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Fase gerak* Gunakan *aseton P*.

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Buat campuran air-metanol P-asam asetat glasial P (69:30:1) saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah sulfametizol BPHI, larutkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 0,4 mg per ml. Encerkan sejumlah volume larutan secara kuantitatif dengan Fase gerak hingga kadar 8 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat, masukan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dengan metanol P sampai tanda. Encerkan sejumlah larutan secara kuantitatif dengan Fase Gerak hingga kadar lebih kurang 8 µg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1 ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 2000 lempeng teoritis, faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) Larutan baku dan Larutan uji. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfametizol, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, dalam zat yang di gunakan dengan rumus:

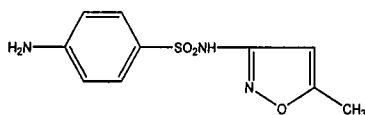
$$2,5C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Sulfametizol BPHI dalam µg per ml Larutan baku; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## SULFAMETOKSAZOL

### Sulfamethoxazole



N<sup>1</sup>-(5 metil-3-isoksazolil)sulfanilamida [723-46-6]  
C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S BM 253,28

Sulfametoksazol mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai hampir putih; praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air, dalam eter dan dalam kloroform; mudah larut dalam aseton dan dalam larutan natrium hidroksida encer; agak sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding Sulfametoksazol BPHI**; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Sulfanilamida BPHI; simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Sulfametoksazol BPHI.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 100.000) dalam larutan natrium hidroksida P (1 dalam 250) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Sulfametoksazol BPHI; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 257 nm berbeda tidak lebih dari 2,0%

C. Larutkan lebih kurang 100 mg zat dalam 2 ml asam klorida P, tambahkan 3 ml larutan natrium nitrit P (1 dalam 100) dan 1 ml larutan natrium hidroksida P (1 dalam 10) yang berisi 10 mg 2-naftol P: terbentuk endapan merah jingga.

**Jarak lebur** <1021> Metode I Antara 168° dan 172°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Selenium** <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg zat.

**Sulfanilamida dan Asam sulfanilat** Tidak lebih dari 0,2%. Lakukan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Campuran etanol P-n-heptan P-kloroform P-asam asetat glasial P (25:25:25:7).

**Penampak bercak** Buat larutan dengan 100 mg p-dimetilaminobenzaldehida P dalam 1 ml asam klorida P.

**Larutan baku** Larutkan 100 mg Sulfametoksazol BPHI dalam 0,10 ml amonium hidroksida P, encerkan dengan metanol P secukupnya hingga 10,0 ml

**Larutan acuan** Larutkan 20 mg *Sulfanilamida BPFi* dan 20 mg *asam sulfanilat P* dalam 10 ml *amonium hidroksida P*, encerkan dengan *metanol P* hingga 100 ml. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 10 ml *amonium hidroksida P*, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

**Larutan uji** Larutkan 100 mg zat dalam 0,10 ml *amonium hidroksida P*, encerkan dengan *metanol P* hingga 10,0 ml

**Prosedur** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku*, 25 µl *Larutan acuan* dan 10 µl *Larutan uji* pada lempeng kromatografi silika gel, biarkan bercak kering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* hingga merambat lebih kurang tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan kering di udara. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak* dan encerkan dengan *etanol P* hingga 100 ml. Harga  $R_f$  sulfametoksazol, sulfanilamida dan asam sulfanilat berturut-turut lebih kurang 0,7; 0,5 dan 0,1. Bercak sulfanilamida dan asam sulfanilat yang diperoleh dari *Larutan uji* tidak lebih besar atau lebih intensif dari bercak *Larutan acuan*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam campuran 20 ml *asam asetat glasial P* dan 40 ml air, tambahkan 15 ml *asam klorida P*. Dinginkan hingga 15°, dan segera titrasi dengan *natrium nitrit 0,1 M LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik menggunakan elektrode kalomel dan platina.

Tiap ml *natrium nitrit 0,1 M*  
setara dengan 25,33 mg  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI SULFAMETOKSAZOL DAN TRIMETOPRIM

### Sulfamethoxazole and Trimethoprim Injection

Injeksi Sulfametoksazol dan Trimetoprim adalah larutan steril sulfametoksazol dan trimetoprim dalam *Air untuk injeksi* yang jika diencerkan dengan *Injeksi Dekstrosa* sesuai untuk infus intravena. Mengandung sulfametoksazol,  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$  dan trimetoprim,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sulfametoksazol BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Trimetoprim BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Sulfanilamida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum

digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Asam Sulfanilat BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi Harga  $R_f$**  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku 2 Uji 1* ( $R_f$  lebih kurang 0,5) dan *Larutan baku 1 Uji 2* ( $R_f$  lebih kurang 0,7) seperti yang diperoleh pada *Kemurnian kromatografi*.

**Pirogen <231>** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan dosis uji 0,5 ml per kg.

**pH <1071>** Antara 9,5 dan 10,5.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

### Kemurnian kromatografi

**UJI 1** (Untuk produk urai trimetoprim) Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran *kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P* (97:7,5:1).

**Penampak bercak** Buat campuran sejumlah volume sama larutan *besi(III) klorida P* (1 dalam 10) dan larutan *kalium besi(III) sianida P* (1 dalam 20) yang dibuat segar.

**Larutan asam klorida** Encerkan 2,0 ml *asam klorida 3 N* dengan air hingga 100 ml.

**Pelarut** Buat campuran *kloroform P-metanol P* (1:1).

**Larutan baku 1** Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga kadar 48 mg per ml.

**Larutan baku 2** Encerkan sejumlah volume *Larutan baku 1* dengan *Pelarut* hingga kadar 240 µg per ml.

**Larutan uji** Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 48 mg trimetoprim dan 240 mg sulfametoksazol, masukkan ke dalam tabung sentrifuga 50 ml bersumbat kaca. Tambahkan 15 ml *Larutan asam klorida* dan campur. Tambahkan 15 ml *kloroform P*, kocok selama 30 detik dan sentrifus pada kecepatan tinggi selama 3 menit. Masukkan beningan ke dalam corong pisah 125 ml. Ekstraksi lapisan kloroform dalam tabung sentrifuga dengan 15 ml *Larutan asam klorida*, sentrifus pada kecepatan tinggi dan tambahkan beningan ke dalam corong pisah. Tambahkan 2 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) ke dalam corong pisah ini dan ekstraksi 4 kali, tiap kali dengan 20 ml *kloroform P*, kumpulkan lapisan organik dalam labu Erlenmeyer 125 ml. Uapkan kloroform dengan aliran *nitrogen P* sampai kering. Larutkan residu dalam 1 ml *Pelarut*.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji*, *Larutan baku 1* dan *Larutan baku 2*

pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tidak kurang dari 12 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan kering di udara. Amati di bawah cahaya UV 254 nm. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak* dan amati secara visual. Harga  $R_f$  bercak trimetoprim dan produk urainya berturut-turut adalah lebih kurang 0,5 dan 0,6 hingga 0,7. Ukuran dan intensitas seluruh bercak pada  $R_f$  lebih kurang 0,6 sampai 0,7 dari *Larutan uji* tidak lebih besar dari bercak pada  $R_f$  lebih kurang 0,5 dari *Larutan baku 2* dengan perbedaan tidak lebih dari 0,5%. [Catatan Mungkin ada bercak dari bahan eksipien pada  $R_f$  lebih kurang 0,1.]

**UJI 2** (Untuk sulfanilamida dan asam sulfanilat) Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Campuran etanol-metanol* Buat campuran etanol mutlak *P-metanol P* (95:5).

*Fase gerak* Buat (*Campuran etanol-metanol*)-heptan *P-kloroform P-asam asetat glasial P* (30:30:30:10).

*Penampak bercak modifikasi Ehrlich* Larutkan lebih kurang 100 mg *p-dimetil aminobenzaldehida P* dalam 1 ml *asam klorida P* dan encerkan dengan etanol *P* hingga 100 ml.

*Larutan amonium hidroksida* Encerkan 1,0 ml amonium hidroksida *P* dengan *Campuran etanol-metanol* hingga 100 ml.

*Larutan baku 1* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Sulfametoksazol BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 5-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan amonium hidroksida* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Sulfanilamida BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan amonium hidroksida* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 10-ml dan encerkan dengan *Larutan amonium hidroksida* sampai tanda.

*Larutan baku 3* Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Asam Sulfanilat BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan amonium hidroksida*. Pipet 3 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 10-ml dan encerkan dengan *Larutan amonium hidroksida* sampai tanda.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 32 mg trimetoprim dan 160 mg sulfametoksazol, masukkan ke dalam gelas ukur 25 ml, encerkan dengan *Larutan amonium hidroksida* hingga 16 ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l *Larutan uji*, *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2* dan *Larutan baku 3* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 cm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatograf yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat tidak kurang dari 12 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan di udara hingga kering. Semprot dengan *Penampak bercak*

*modifikasi Ehrlich* dan biarkan lempeng selama 15 menit. Harga  $R_f$  bercak sulfametoksazol lebih kurang 0,7. Ukuran dan intensitas seluruh bercak pada  $R_f$  lebih kurang 0,5 atau 0,1 dari *Larutan uji* tidak lebih besar dari berturut-turut bercak *Larutan baku 2* dan *Larutan baku 3*, dengan perbedaan tidak lebih dari 0,5% sulfanilamida dan 0,3% asam sulfanilat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Larutan baku* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Suspensi Oral Sulfametoksazol dan Trimetoprim*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 80 mg sulfametoksazol, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Tambahkan *metanol P* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, saring.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfametoksazol,  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ , dan trimetoprim,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , dalam tiap ml injeksi dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sulfametoksazol BPFI* atau *Trimetoprim BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume injeksi dalam ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sulfametoksazol atau trimetoprim dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal, tidak tembus cahaya, sebaiknya dari kaca Tipe I dan dapat dikemas dalam wadah dosis ganda 50 ml.

**Penandaan** Pada etiket dicantumkan injeksi harus diencerkan dengan Injeksi Dekstrosa 5% sebelum digunakan.

## SUSPENSII ORAL SULFAMETOKSAZOL DAN TRIMETOPRIM

### Sulfamethoxazole and Trimethoprim Oral Suspension

Suspensi oral Sulfametoksazol dan Trimetoprim mengandung Sulfametoksazol,  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$  dan Trimetoprim,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Sulfametoksazol BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum



digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Sulfametoksazol N<sub>4</sub>-Glukosida BPFI*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Sulfanilamida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Asam Sulfanilat BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Trimetoprim BPFI*; tidak boleh dikeringkan simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi Harga R<sub>f</sub> bercak utama Larutan uji** sesuai dengan *Larutan baku 2 Uji 1* (R<sub>f</sub> lebih kurang 0,7) dan *Larutan baku 1 Uji 2* (R<sub>f</sub> lebih kurang 0,7) seperti yang diperoleh pada *Kemurnian kromatografi*.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat untuk suspensi oral yang dikemas dalam wadah dosis tunggal.

**Volume berpindahkan <1261>** Memenuhi syarat untuk suspensi oral yang dikemas dalam wadah dosis ganda.

**pH <1071>** Antara 5,0 dan 6,5.

**Etanol <1041> Metode II** Tidak lebih dari 0,5% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH.

#### **Kemurnian kromatografi**

**UJI 1** (Untuk produk urai trimetoprim) Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P* (80:20:3).

*Pelarut* Buat campuran *kloroform P-metanol P* (8:2).

*Larutan baku 1* Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPFI*, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Larutan baku 2* Ukur saksama sejumlah volume *Larutan baku 1*, encerkan dengan *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume suspensi oral setara dengan lebih kurang 40 mg trimetoprim ke dalam corong pisah. Ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 25 ml *Pelarut* dan kumpulkan ekstrak dalam labu Erlenmeyer 125ml. Uapkan ekstrak dengan bantuan aliran udara, di atas tangas uap sampai kering. Larutkan residu dalam 2,0 ml *Pelarut* dan sentrifus.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji*, *Larutan baku 1* dan *Larutan baku 2* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tidak kurang dari 15 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat biarkan di udara hingga kering. Amati di bawah cahaya UV 254 nm. Harga R<sub>f</sub> bercak trimetoprim dan produk urainya berturut-turut adalah lebih kurang 0,7 dan 0,3 hingga 0,5. Ukuran dan

intensitas seluruh bercak pada R<sub>f</sub> lebih kurang 0,3 sampai 0,5 dari *Larutan uji* tidak lebih besar dari bercak pada R<sub>f</sub> lebih kurang 0,7 dari *Larutan baku 2* setara dengan tidak lebih dari 0,5%.

**UJI 2** (Untuk sulfanilamida, asam sulfanilat dan sulfametoksazol N<sub>4</sub> glukosida) Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Campuran etanol-metanol* Buat campuran *etanol mutlak P-metanol P* (95:5).

*Fase gerak* Buat campuran (*Campuran etanol-metanol*)-*heptan P-kloroform P-asam asetat glasial P* (25:25:25:7).

*Penampak bercak modifikasi Ehrlich* Larutkan 100 mg *p-dimetilaminobenzaldehida P* dalam 1 ml *asam klorida P* dan encerkan dengan *etanol P* hingga 100 ml.

*Larutan baku 1* Timbang saksama lebih kurang 20 mg *Sulfametoksazol BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dalam 1 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Sulfanilamida BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam 5 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan baku 3* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Asam Sulfanilat BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam 5 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 3 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan baku 4* Timbang saksama lebih kurang 3 mg *Sulfametoksazol N<sub>4</sub>-Glukosida BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam 5 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume suspensi oral setara dengan lebih kurang 200 mg sulfametoksazol masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml yang berisi 10 ml *amonium hidroksida P*. Tambahkan 50 ml *metanol P*, kocok selama 3 menit, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda dan sentrifus selama 3 menit.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 50 µl *Larutan uji*, *Larutan baku 1*, *Larutan baku 2*, *Larutan baku 3* dan *Larutan baku 4* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang tidak dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga tidak kurang dari 12 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan di udara hingga kering. Semprot dengan *Penampak bercak modifikasi Ehrlich* dan biarkan lempeng selama 15 menit. Harga R<sub>f</sub> bercak sulfametoksazol lebih kurang 0,7. Seluruh ukuran dan intensitas bercak pada R<sub>f</sub> lebih kurang 0,5; 0,1 dan 0,3

dari *Larutan uji* tidak lebih besar dari berturut-turut bercak *Larutan baku 2*, *Larutan baku 3* dan *Larutan baku 4* yang sesuai dengan tidak lebih dari 0,5% untuk sulfanilamida; 0,3% untuk asam sulfanilat dan 3,0% untuk sulfametoksazol N<sub>4</sub>-glukosida.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Masukkan 1400 ml air, 400 ml *asetonitril P* dan 2,0 ml *trietilamin P* ke dalam labu tentukur 2000-ml, campur. Diamkan hingga suhu ruang dan atur pH hingga 5,9±0,1 dengan penambahan *natrium hidoksida 0,2 N* atau *asam asetat glasial P* (1 dalam 100). Encerkan dengan air sampai tanda, saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPF* dan *Sulfametoksazol BPF*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan *metanol P* hingga kadar berturut-turut 0,32 mg per ml dan 0,32 J mg per ml. *J* adalah perbandingan jumlah sulfametoksazol yang tertera pada etiket, dalam mg terhadap jumlah trimetoprim yang tertera pada etiket, dalam mg. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume suspensi oral setara dengan lebih kurang 80 mg sulfametoksazol masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml dengan bantuan lebih kurang 30 ml *metanol P*. Sonikasi campuran selama lebih kurang 10 menit sambil sesekali dikocok. Diamkan hingga suhu ruang, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda, kocok dan sentrifus. Pipet 5 ml beningan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, kocok dan saring.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml permenit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif trimetoprim dan sulfametoksazol berturut-turut adalah lebih kurang 1,0 dan 1,8; resolusi, *R*, antara sulfametoksazol dan trimetoprim tidak kurang dari 5,0; faktor ikutan puncak trimetoprim dan sulfametoksazol tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfametoksazol, C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S dan trimetoprim, C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, dalam tiap ml suspensi oral dengan rumus:

$$500 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sulfametoksazol BPF* atau *Trimetoprim BPF* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume suspensi oral dalam ml yang digunakan dalam membuat *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak sulfametoksazol atau trimetoprim dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TABLET SULFAMETOKSAZOL DAN TRIMETOPRIM

### Sulfamethoxazole and Trimethoprim Tablet

Tablet Sulfametoksazol dan Trimetoprim mengandung Sulfametoksazol, C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S dan Trimetoprim, C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0 % dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Trimetoprim BPF*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. *Sulfametoksazol BPF*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Campuran kloroform *P-isopropil alkohol P-dietilamin P* (6:5:1)

*Larutan uji* Masukkan sejumlah serbuk halus tablet setara dengan 4 mg trimetoprim ke dalam labu tentukur 10-ml, tambahkan 8 ml *metanol P*, hangatkan selama beberapa menit di atas tangas uap sambil sering dikocok. Dinginkan, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda, sentrifus sebentar.

*Larutan baku Trimetoprim* Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPF*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 0,4 mg per ml

*Larutan baku Sulfametoksazol* Timbang saksama sejumlah *Sulfametoksazol BPF*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 2 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji*, *Larutan baku Trimetoprim*, *Larutan baku Sulfametoksazol* pada lempeng kromatografi *silika gel*, keringkan dengan aliran udara hangat. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatograf yang dijenuhkan dengan *Fase gerak*. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm: harga *R<sub>f</sub>* bercak trimetoprim dan sulfametoksazol yang diperoleh dari *Larutan uji* sama dengan harga *R<sub>f</sub>* yang diperoleh dari *Larutan baku* yang sesuai berturut-turut; lebih kurang 0,3 dan lebih kurang 0,5.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi*: 900 ml asam klorida 0,1 N

*Alat tipe 1*: 75 rpm.

*Waktu*: 60 menit.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah sulfametoksazol, C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S dan trimetoprim C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> yang terlarut menggunakan cara pada Prosedur seperti tertera pada *Penetapan kadar*, jika perlu lakukan penyesuaian volumetrik seperti pada *Kromatografi* <931>. Hitung persentase masing-masing zat aktif yang terlarut dengan membandingkan respons puncak yang diperoleh dari alikuot dengan respons puncak dari komponen yang sesuai yang diperoleh dari larutan baku.

**Toleransi** Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q), sulfametoksazol, C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S dan trimetoprim, C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Fase gerak** Masukkan 1400 ml air, 400 ml *asetonitril P* dan 2,0 ml *trietilamin P* ke dalam labu tentukur 2000-ml, campur. Diamkan hingga suhu ruang dan atur pH hingga 5,9±0,1 dengan penambahan *natrium hidroksida 0,2 N* atau *asam asetat glasial P* (1 dalam 100). Encerkan dengan air sampai tanda, saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPFi* dan *Sulfametoksazol BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dalam *metanol P* hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,32 mg per ml dan 0,32 J mg per ml. (J adalah perbandingan jumlah dalam mg sulfametoksazol yang tertera pada etiket terhadap jumlah dalam mg trimetoprim yang tertera pada etiket dalam sediaan). Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, hingga kadar *Trimetoprim BPFi* lebih kurang 0,032 mg per ml dan *Sulfametoksazol BPFi* lebih kurang 0,032 J mg per ml.

**Larutan uji** Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 10 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 160 mg sulfametoksazol, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan lebih kurang 50 ml *metanol P* dan sonikasi selama 5 menit sambil sering dikocok. Biarkan hingga suhu kamar, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 5 ml filtrat jernih ke dalam labu tentukur 50-ml encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara sulfametoksazol dan trimetoprim tidak kurang dari 5,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak

lebih dari 2,0 %. Waktu retensi relatif trimetoprim dan sulfametoksazol berturut-turut adalah 1,0 dan 1,8.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfametoksazol, C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S dan trimetoprim, C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

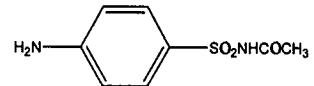
$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Baku pembanding FI* yang sesuai dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons analit yang sesuai diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## SULFASETAMIDA

### Sulfacetamide



*N-Sulfanililasetamida* [144-80-9]

C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S

BM 214,24

Sulfasetamida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; tidak berbau; rasa asam khas. Larutan dalam air peka terhadap cahaya, tidak stabil dalam suasana asam dan dalam alkali kuat.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air dan dalam eter; mudah larut dalam asam mineral encer, dalam larutan kalium hidroksida dan dalam larutan natrium hidroksida; larut dalam etanol; sangat sukar larut dalam kloroform; praktis tidak larut dalam benzen.

**Baku pembanding** *Sulfasetamida BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam, sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti *Sulfasetamida BPFi*.

B. Panaskan perlahan-lahan lebih kurang 500 mg zat dalam tabung reaksi hingga mendidih, dinginkan;

terbentuk cairan berminyak disertai bau khas asetamida, terbentuk kondensasi pada dinding tabung (*berbeda dari sublimat sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin dan sulfapirazin, yang berbentuk padat pada suhu ruang*).

**Keasaman Larutan** (1 dalam 150) bereaksi asam terhadap *lakmus P*.

**Kejernihan dan warna larutan** Larutkan lebih kurang 200 mg zat dalam 5 ml *natrium hidroksida 1 N*: terjadi warna kuning hingga kuning pucat dan hanya terbentuk sedikit kekeruhan.

**Jarak lebur** <1021> *Metode I* antara 181° dan 184°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Selenium** <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg zat.

**Sulfat** <361> Tidak lebih dari 0,04%; lakukan penetapan dengan mendigesti 1 g zat dengan 50 ml air pada suhu 70° selama 5 menit, dinginkan segera hingga suhu ruang dan saring; 25 ml filtrat mengandung sulfat tidak lebih dari sulfat yang terkandung dalam 0,2 ml *asam sulfat 0,02 N*.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Penetapan kadar** Lakukan seperti tertera pada *Titration Nitrimetri* dalam *Titrasi* <471>.

*Tiap ml natrium nitrit 0,1 M  
setara dengan 21,42 mg C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.S*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## SULFASETAMIDA NATRIUM Sulfacetamide Sodium

*N-sulfamililasetamida garam mononatrium monohidrat*  
[6209-17-2]

C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>S.H<sub>2</sub>O                      BM 254,24  
Anhidrat [127-56-0]                        BM 236,23

Sulfasetamida Natrium mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>S, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih; tidak berbau; rasa pahit.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembandingan Sulfasetamida Natrium BPHI**; lakukan *Penetapan kadar* air secara titrimetri saat digunakan. Bahan ini sangat higroskopis, simpan di atas silika gel. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat sejuk.

### Identifikasi

A. Larutkan lebih kurang 1 g zat dalam 25 ml air, atur pH antara 4 dan 5 dengan penambahan *asam asetat 6 N* dan saring. Cuci endapan dengan air dan keringkan pada suhu 105° selama 2 jam: terbentuk hablur yang melebur antara 180° dan 184°.

B. Timbang lebih kurang 500 mg sulfasetamida yang diperoleh dari *Identifikasi A*, masukkan ke dalam tabung reaksi dan panaskan dengan hati-hati hingga mendidih: terbentuk cairan berminyak disertai bau khas asetamida, terbentuk kondensasi pada dinding tabung (*berbeda dari sublimat sulfadiazin, sulfamerazin dan sulfametazin yang berbentuk padat pada suhu ruang*).

C. Filtrat yang diperoleh dari *Identifikasi A* menunjukkan reaksi *Natrium* cara *A* dan *B* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

D. Larutkan lebih kurang 100 mg zat dalam 5 ml air, tambahkan 5 tetes *tembaga(II) sulfat LP*: terbentuk endapan hijau muda kebiruan yang tidak berubah jika didiamkan.

E. Larutkan lebih kurang 500 mg zat dalam 10 ml larutan *asam klorida P* (1:10). Pada setengah bagian dari larutan tersebut, tambahkan 2 ml *trinitrofenol LP*: terbentuk flokulen sangat berat atau endapan seperti gelatin. Pada sisa larutan tambahkan 3 tetes *formaldehida LP*: terbentuk endapan putih, bila didiamkan berubah menjadi jingga (*berbeda dari sulfametoksipiridazin*).

**pH** <1071> Antara 8,0 dan 9,5; lakukan penetapan menggunakan larutan 1 dalam 20.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 8,1%.

**Selenium** <391> Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 200 mg zat.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 1,0 g zat dalam 25 ml air dan tambahkan 5 tetes *natrium sulfida LP* yang dibuat segar: terjadi warna yang tidak lebih gelap dari pembandingan yang dibuat dari 25 ml air; 2,0 ml *Larutan baku timbal* seperti tertera pada *Uji Batas Logam Berat* <371> dan 5 tetes *natrium sulfida LP*.

### Cemaran umum <481>

*Larutan uji* Gunakan *metanol P* sebagai pelarut.

*Larutan baku* Gunakan *metanol P* sebagai pelarut.

*Fase gerak* Buat campuran etil asetat *P*-metanol *P*-amonium hidroksida *P* (17:6:5).

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 1.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Titration Nitrimetri* pada *Titration* <471>.

Tiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 23,62 mg  $C_8H_9N_2NaO_3S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### TETES MATA SULFASSETAMIDA NATRIUM Sulfacetamida Sodium Ophthalmic Solution

Tetes Mata Sulfasetamida Natrium adalah larutan steril mengandung Sulfasetamida Natrium,  $C_8H_9N_2NaO_3S \cdot H_2O$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung dapar, stabilisator dan zat antimikroba yang sesuai.

**Baku pembanding** Sulfasetamida Natrium BPF1; lakukan *Penetapan kadar* air secara titrimetri saat digunakan. Bahan ini sangat higroskopis, simpan di atas silikagel. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat sejuk.

**Identifikasi** Masukkan sejumlah volume tertentu larutan setara dengan lebih kurang 1 g sulfasetamida natrium ke dalam gelas piala dan encerkan dengan air hingga 25 ml. Atur pH antara 4 dan 5 dengan penambahan asam asetat 6 N dan saring. Cuci endapan dengan air dan keringkan pada suhu 105° selama 2 jam; zat yang terbentuk melebur pada suhu antara 180° dan 184°, dan memberikan reaksi seperti tertera pada *Identifikasi B, D dan E* dalam *Sulfasetamida Natrium*.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *kromatografi* <391>.

*Fase gerak* Buat campuran air-metanol *P*-asam asetat *glasial P* (89:10:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Sulfasetamida Natrium BPF1*, masukkan ke dalam tabung sentrifuga 40 ml. Tambahkan 10,0 ml larutan *metanol P* (1 dalam 5) tutup dan kocok menggunakan vorteks selama lebih kurang 3 menit hingga larut. Tambahkan 7,5 ml *heptan P*, tutup dan kocok menggunakan vorteks selama 3 menit lagi. Sentrifug untuk memisahkan lapisan cairan, buang lapisan atas heptan. Pindahkan 3,0 ml lapisan bawah ke dalam labu

tentukur 500-ml, tambahkan larutan *metanol P* (1 dalam 5) sampai tanda.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah larutan yang baru dikocok dan bebas gelembung, setara dengan lebih kurang 100 mg sulfasetamida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Encerkan dengan campuran air-*metanol P* (4:1) sampai tanda. Pipet 3 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan campuran pelarut yang sama sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan 3 mg sulfanilamida dalam 100 ml *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan penetapan dengan cara *kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom yang ditetapkan dari puncak analit tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis, resolusi, *R*, antara puncak sulfasetamida dan sulfanilamida tidak kurang dari 3 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

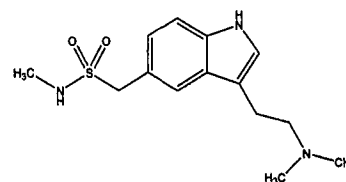
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama lebih kurang 90 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sulfasetamida natrium,  $C_8H_9N_2NaO_3S \cdot H_2O$ , dalam larutan yang digunakan dengan rumus:

$$3,33 C \left( \frac{254,24}{236,23} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Sulfasetamida Natrium BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku* dihitung sebagai zat anhidrat; 254,24 dan 236,23 berturut-turut adalah bobot molekul sulfasetamida natrium monohidrat dan sulfasetamida natrium anhidrat; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat, simpan ditempat sejuk.

### SUMATRIPTAN Sumatriptan



3-[2-(Dimetilamino)etil]-N-metil-1H-indol-5-metan sulfonamida [103628-46-2]

$C_{14}H_{21}N_3O_2S$

BM 295,40

Sumatriptan mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{14}H_{21}N_3O_2S$ , dihitung terhadap zat anhidrat dan bebas pelarut.

**Pemerian** Serbuk putih sampai kuning pucat.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air.

**Baku pembanding** *Sumatriptan BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin. *Sumatriptan Suksinat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin. *Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin. *Senyawa Sejenis C Sumatriptan Suksinat BPFi*. *Cemaran Senyawa Sejenis Sumatriptan Suksinat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sumatriptan BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 1,0%.

**Senyawa sejenis A Sumatriptan** Tidak lebih dari 0,6%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan amonium asetat 10 N* Larutkan 77,1 g amonium asetat *P* dalam 100 ml air.

*Fase gerak* Buat campuran *metanol P-Larutan amonium asetat 10 N* (9:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dalam *Fase gerak* dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak*, hingga kadar lebih kurang 6,25 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 282 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L3* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak senyawa sejenis A sumatriptan. Hitung persentase senyawa sejenis A sumatriptan, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{495,7}{613,8} \right) \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

495,7 dan 613,8 berturut-turut adalah bobot molekul senyawa sejenis A sumatriptan dan senyawa sejenis A sumatriptan suksinat;  $C_s$  adalah kadar *Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar Sumatriptan dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis A sumatriptan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel*. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer dan Larutan kesesuaian sistem* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Dapar* Larutkan lebih kurang 1,7 ml *dibutilamin P*; 0,6 ml *asam fosfat P* dan 3,9 g *natrium fosfat dihidratmonobasa P* dalam air. Atur pH hingga lebih kurang 7,5 dengan penambahan larutan *natrium hidroksida P* 50%, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar-asetonitril P* (3:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan identifikasi* Buat larutan *Cemaran Senyawa Sejenis Sumatriptan Suksinat BPFi* dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 3 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 282 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; waktu retensi relatif senyawa sejenis C sumatriptan suksinat dan sumatriptan berturut-turut adalah lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis C sumatriptan suksinat dengan puncak sumatriptan tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan identifikasi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*; identifikasi puncak seperti tertera pada *Tabel*.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam

kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran;  $r_s$  adalah jumlah semua respons puncak.

Tabel

Nama senyawa	Waktu retensi relatif	Batas (%)
[3-[2-(Dimetilamino <i>N</i> -oksida)etil]-1 <i>H</i> -indol-5-il]- <i>N</i> -metilmetansulfonamida	±0,3	0,2
[3-[2-(Metilamino)etil]-1 <i>H</i> -indol-5-il]- <i>N</i> -metilmetansulfonamida	±0,6	0,5
Senyawa sejenis C sumatriptan suksinat	±0,9	0,5
Sumatriptan	1,0	-
3-[2-(Aminoetil)-1 <i>H</i> -indol-5-il]- <i>N</i> -metilmetansulfonamida	±0,4	0,1
Cemaran yang tidak diketahui	-	0,1
Total cemaran	-	1,5

[Catatan Perhitungan total cemaran termasuk jumlah senyawa sejenis A sumatriptan, yang ditetapkan dalam uji Senyawa sejenis A sumatriptan]

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer** Larutkan 3,9 g natrium fosfat monobasa dihidrat *P* dalam air. Atur pH hingga lebih kurang 6,5 dengan penambahan larutan natrium hidroksida *P* 50 %, encerkan dengan air hingga 1000 ml. Campur 750 ml larutan dengan 250 ml asetonitril *P*.

**Dapar** Larutkan lebih kurang 1,7 ml dibutilamin *P*; 0,6 ml asam fosfat *P* dan 3,9 g natrium fosfat monobasa dihidrat *P* dalam air. Atur pH hingga lebih kurang 6,5 dengan penambahan larutan natrium hidroksida *P* 50 %, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar*-asetonitril *P* (3:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah Sumatriptan Suksinat BPF1 dan Senyawa Sejenis C Sumatriptan Suksinat BPF1, larutkan dalam Pengencer hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,28 mg per ml dan 0,14 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Sumatriptan Suksinat BPF1, larutkan dalam Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,14 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan kromatografi seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 282 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis C sumatriptan suksinat dan sumatriptan berturut-turut lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis C sumatriptan suksinat dengan puncak sumatriptan tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

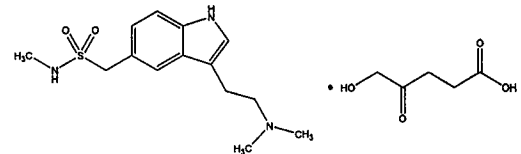
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg sumatriptan, C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{295,4}{413,5} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar Sumatriptan Suksinat BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; 295,4 dan 413,5 berturut-turut adalah bobot molekul sumatriptan dan sumatriptan suksinat;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak sumatriptan dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Terlindung dari pembekuan dan simpan di bawah suhu 30°.

## SUMATRIPTAN SUKSINAT Sumatriptan Succinate



3-[2-(Dimetilamino)etil]-*N*-metilindol-5-metansulfonamida suksinat (1:1) [103628-48-4]  
C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub> BM 413,49

Sumatriptan Suksinat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat dan bebas pelarut.

**Pemerian Serbuk;** putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam metanol; praktis tidak larut dalam diklorometan.

**Baku pembanding** *Sumatriptan Suksinat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin. *Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin. *Senyawa Sejenis C Sumatriptan Suksinat. Cemaran Sejenis Sumatriptan Suksinat BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, pada lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Sumatriptan Suksinat BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 1,0%.

**Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat** Tidak lebih dari 0,6%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan amonium asetat 10 N* Larutkan 77,1 g amonium asetat *P* dalam 100 ml air.

**Fase gerak** Buat campuran *metanol P-Larutan amonium asetat 10 N* (9:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 6,25 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 70 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 282 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L3* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak senyawa sejenis A sumatriptan suksinat.

Hitung persentase senyawa sejenis A sumatriptan, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{495,7}{613,8} \right) \left( \frac{413,5}{295,4} \right) \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

495,7 dan 613,8 berturut-turut adalah bobot molekul senyawa sejenis A sumatriptan dan senyawa sejenis A sumatriptan suksinat; 413,5 dan 295,4 berturut-turut adalah bobot molekul sumatriptan suksinat dan sumatriptan;  $C_s$  adalah kadar *Senyawa Sejenis A Sumatriptan Suksinat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_u$  adalah kadar sumatriptan suksinat dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis A sumatriptan suksinat dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel*. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Pengencer dan Larutan resolusi** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Dapar** Larutkan lebih kurang 1,7 ml *dibutilamin P*; 0,6 ml *asam fosfat P* dan 3,9 g *natrium fosfat monobasa P* dalam air. Atur pH hingga lebih kurang 7,5 dengan penambahan larutan *natrium hidroksida P 50 %*, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar-asetonitril P* (4:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan identifikasi** Buat larutan *Cemaran Senyawa Sejenis Sumatriptan Suksinat BPFi* dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 3 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 2,8 mg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Setelah kriteria resolusi terpenuhi, lakukan kromatografi terhadap *Larutan identifikasi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: identifikasi puncak seperti tertera pada *Tabel*.

**Prosedur** Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran;  $r_s$  adalah jumlah semua respons puncak.



Tabel

Senyawa sejenis	Perkiraan waktu retensi relatif	Batas (%)
[3-[2-(Dimetilamino)N-oksida)etil]-1H-indol-5-il]-N-metilmetansulfonamida	0,3	0,2
3-[2-(Aminoetil)-1H-indol-5-il]-N-metilmetansulfonamida	0,4	0,1
[3-[2-(Metilamino)etil]-1H-indol-5-il]-N-metilmetansulfonamida	0,6	0,5
Senyawa sejenis C sumatriptan suksinat	0,9	0,5
Sumatriptan	1,0	-
Masing-masing cemaran lain	-	0,1
Total cemaran	-	1,5

[Catatan Perhitungan total cemaran termasuk senyawa sejenis A sumatriptan, yang ditetapkan dalam uji Senyawa sejenis A sumatriptan]

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pengencer** Larutkan 2,97 g natrium fosfat monobasa P dalam 600 ml air. Atur pH hingga lebih kurang 6,5 dengan penambahan larutan natrium hidroksida P 50%, encerkan dengan air hingga 750 ml, tambahkan 250 ml asetonitril P.

**Fase gerak** Larutkan 1,7 ml dibutilamin P; 0,6 ml asam fosfat P dan 3,9 g natrium fosfat monobasa P dalam 750 ml air. Atur pH hingga 6,5 dengan penambahan larutan natrium hidroksida P 50%, encerkan dengan air hingga 1000 ml. Campur 800 ml larutan dengan 200 ml asetonitril P. Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Larutan resolusi** Timbang saksama sejumlah Sumatriptan Suksinat BPFI dan Senyawa Sejenis C Sumatriptan Suksinat BPFI, larutkan dalam Pengencer hingga kadar berturut-turut lebih kurang 0,28 mg per ml dan 0,14 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Sumatriptan Suksinat BPFI, larutkan dalam Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,14 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,14 mg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 282 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif senyawa sejenis C sumatriptan suksinat dan sumatriptan berturut-turut lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak senyawa

sejenis C sumatriptan suksinat dengan puncak sumatriptan tidak kurang dari 1,5. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase, sumatriptan suksinat, C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C<sub>s</sub> adalah kadar Sumatriptan Suksinat BPFI dalam mg per ml Larutan baku; C<sub>U</sub> adalah kadar sumatriptan suksinat dalam mg per ml Larutan uji; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Terlindung dari pembekuan dan simpan di bawah suhu 30°.

## INJEKSI TALIMUM <sup>201</sup>Ti Klorida Talium <sup>201</sup>Ti Chloride Injection

TICI

Injeksi Talium <sup>201</sup>Ti Klorida adalah larutan Talium radioaktif (<sup>201</sup>Ti) dalam air, steril dan isotonis, dalam bentuk talium (I) klorida, untuk pemberian intravena. Mengandung <sup>201</sup>Ti dalam bentuk talium(I) klorida tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket, dinyatakan dalam MBq (µCi atau mCi) per ml, pada waktu dan tanggal kalibrasi dilakukan. Radioaktivitas bentuk kimia lain tidak lebih dari 5,0% radioaktivitas total. Injeksi dapat mengandung pengawet dan penstabil.

**Baku pembanding Endotoksin BPFI;** [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi radionuklida** Lakukan seperti tertera pada Radioaktivitas <1171>. Spektrum sinar gamma menunjukkan puncak energi utama 167 KeV dan puncak energi lain 135 KeV yang sama dengan <sup>201</sup>Ti yang digunakan sebagai baku dengan kemurnian diketahui.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 175/V unit Endotoksin FI per ml injeksi; V adalah jumlah dosis

maksimum yang dianjurkan, dalam ml, pada waktu dan tanggal kadaluarsa.

pH <1071> Antara 4,5 dan 7,5.

**Kemurnian radiokimia** Rendam kertas selulosa poliasetat 2,5 cm x 15 cm dalam *dinatrium etilendiamina tetraasetat 0,05 M* selama 45 menit sampai 60 menit. Angkat kertas pada bagian pinggir hati-hati menggunakan pinset dan letakkan antara dua lembar kertas isap untuk menghilangkan sisa larutan. Totolkan tidak kurang dari 5 µl dari campuran sama banyak Injeksi Talium Klorida <sup>201</sup>Tl dan *dinatrium etilendiamina tetraasetat 0,05 M* di tengah kertas dan beri tanda. Letakkan kertas pada bejana elektroforesis yang kedua sisinya berisi larutan *dinatrium etilendiaminatetraasetat 0,05 M* sama banyak. Pastikan kedua ujung kertas tercelup dalam pelarut di kedua sisi. Tutup dan lakukan elektroforesis pada 250 volt selama 30 menit. Angkat kertas dari bejana elektroforesis dan biarkan mengering di udara tanpa kertas isap. Tetapkan radioaktivitas menggunakan penatah dan alat pencacah yang sesuai. Tidak kurang dari 95,0% radioaktivitas pada kertas bergerak menuju katoda sebagai satu bercak.

**Kemurnian radionuklida** Lakukan penetapan radioaktivitas tiap cemaran radionuklida menggunakan alat pencacah yang sesuai, seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*. Tidak kurang dari 95,0% radioaktivitas total adalah talium-201; tidak lebih dari 2,0%, 0,3% dan 2,7% berasal dari masing-masing talium-200 (waktu paro 26,1 jam), timbal-203 (waktu paro 52,02 jam) dan talium-202 (waktu paro 12,23 hari).

#### Talium

**Larutan baku talium** Timbang saksama lebih kurang 235 mg talium (I) klorida, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 1 ml ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan larutan *natrium klorida P 0,9%* yang mengandung *benzilalkohol P 0,9%* sampai tanda hingga diperoleh kadar 2 µg talium per ml.

**Prosedur** Pipet secara terpisah 1 ml *Larutan baku talium* dan 1 ml injeksi ke dalam tabung reaksi bertutup putar. Campur hati-hati 18 ml *asam nitrat P* dan 82 ml *asam klorida P*; tambahkan 2 tetes campuran ini ke dalam tiap tabung. Tambahkan 1 ml larutan *asam sulfosalisilat P* (1 dalam 10). Tambahkan 2 tetes *asam klorida 12 N* dan 4 tetes larutan *rodamin B P* (50 mg *rodamin B P* dilarutkan dalam *asam klorida P* sampai 100,0 ml) tambahkan 1 ml *diisopropil eter P*. Tutup tabung rapat-rapat; kocok dengan tangan selama 1 menit tepat, tutup dibuka sedikit untuk mengurangi tekanan; kemudian tutup kembali; biarkan lapisan terpisah. Masukkan 0,5 ml lapisan *diisopropil eter P* dari tiap tabung ke dalam tabung lain. Bandingkan warna kedua larutan: warna lapisan eter injeksi tidak lebih gelap dari warna *larutan baku talium*.

**Besi** Teteskan secara terpisah ke dalam lekuk pelat tetes 0,1 ml injeksi dan 0,1 ml *larutan baku besi*, seperti tertera pada *Uji Batas Besi <331>*, yang diencerkan dengan air hingga kadar 5 µg per ml. Tambahkan pada tiap lekuk 0,1 ml larutan *hidroksilamin hidroklorida P* (1 dalam 10), 1 ml larutan *natrium asetat P* (1 dalam 4) dan 0,1 ml larutan *dipiridil P 0,5%* (500 mg 2,2'-*dipiridil P* dilarutkan dalam 100 ml air yang mengandung 0,15 ml *asam klorida P*) dan campur. Setelah 5 menit, warna injeksi tidak lebih gelap dari warna *Larutan baku besi*.

#### Tembaga

**Larutan baku tembaga** Larutkan 982 mg *tembaga(II) sulfat P* dalam 1000 ml *asam klorida 0,1 N*. Pipet 2 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *asam klorida 0,1 N* sampai tanda, hingga diperoleh kadar 5 µg tembaga per ml.

**Prosedur** Teteskan secara terpisah ke dalam lekuk pelat tetes 0,2 ml injeksi dan 0,2 ml *Larutan baku tembaga*. Pada tiap lekuk tambahkan 0,2 ml air, 0,1 ml larutan besi tiosianat (1,5 g *besi(III) klorida P* dan 2 g *kaliun tiosianat P* dilarutkan dalam air hingga 100,0 ml). Campur, tambahkan 0,1 ml larutan *natrium tiosulfat P* (1 dalam 100) dan campur. Waktu dibutuhkan Injeksi Talium <sup>201</sup>Tl Klorida untuk menghilangkan warna sama atau lebih lama dari waktu yang dibutuhkan *Larutan baku tembaga*.

**Syarat lain Memenuhi syarat Injeksi**, kecuali bahwa injeksi boleh diberikan sebelum uji sterilitas selesai, uji sterilitas dilakukan pada hari akhir produksi dan bahwa tidak harus memenuhi anjuran seperti tertera pada penetapan Volume dalam wadah.

**Penetapan radioaktivitas** Lakukan penetapan radioaktivitas dalam MBq (µCi atau mCi) per ml injeksi Talium <sup>201</sup>Tl Klorida menggunakan alat pencacah seperti tertera pada *Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi dalam Radioaktivitas <1171>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda.

**Penandaan** Kecuali pernyataan seperti tertera pada *Penandaan dalam Injeksi*, pada penandaan juga tertera: (1) Waktu dan tanggal kalibrasi, (2) jumlah <sup>201</sup>Tl sebagai talium(I) klorida yang dinyatakan dalam MBq (µCi atau mCi) jumlah dan kadar dalam MBq (µCi atau mCi) per ml pada saat kalibrasi, (3) waktu dan tanggal kadaluarsa, (4) Pernyataan "awas bahan radioaktif", (5) Informasi bahwa dalam perhitungan dosis, lakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif, (6) waktu paro <sup>201</sup>Tl adalah 73,1 jam.

## TALK Talcum

Talk adalah magnesium silikat hidrat alam, kadang-kadang mengandung sedikit aluminium silikat.

**Pemerian** Serbuk hablur sangat halus, putih atau putih kelabu. Berkilat, mudah melekat pada kulit dan bebas dari butiran.

**Identifikasi** Campur lebih kurang 200 mg *natrium karbonat anhidrat P* dengan 2 g *kalium karbonat anhidrat P*, dan lebur dalam krus platina. Setelah melebur tambahkan 100 mg zat dan teruskan pemanasan sampai melebur sempurna. Dinginkan dan pindahkan campuran tersebut ke dalam gelas piala atau cawan dengan pertolongan lebih kurang 50 ml air panas. Tambahkan *asam klorida P* ke dalam larutan hingga tak terbentuk gas lagi, kemudian tambahkan lagi 10 ml asam dan uapkan campuran di atas tangas uap sampai kering, dinginkan, tambahkan 20 ml air, didihkan dan saring; sisa yang tidak larut adalah silika. Pada 5 ml filtrat tambahkan lebih kurang lebih kurang 2 g *amonium klorida P* dan 5 ml *amonium hidoksida 6 N*. Saring bila perlu, dan pada filtrat tambahkan *natrium fosfat dibasa LP*: terbentuk endapan hablur putih magnesium amonium fosfat.

**Batas mikroba <51>** Angka Lempeng total tidak lebih dari 500 per g.

**Keasaman-kebasaan dan zat yang larut** Netral dan tidak lebih dari 0,1%. Didihkan 10 g dengan 50 ml air selama 30 menit. Tambahkan air sewaktu-waktu untuk menjaga supaya volume tetap seperti semula dan saring; filtrat bereaksi netral terhadap *kertas lakmus P*. Uapkan setengah bagian filtrat hingga kering, keringkan pada suhu 105° selama 1 jam: sisa tidak lebih dari 5 mg.

**Zat larut dalam asam** Tidak lebih dari 2,0%. Ekstraksi 1,00 g dengan 20 ml *asam klorida 3 N* pada suhu 50° selama 15 menit, tambahkan air untuk menjaga supaya volume tetap seperti semula, kocok dan saring. Pada 10 ml filtrat tambahkan 1 ml *asam sulfat 2 N*, uapkan hingga kering dan pijarkan hingga bobot tetap; bobot sisa tidak lebih dari 10 mg.

**Susut pemijaran <1111>** Tidak lebih dari 6,5%; lakukan pemijaran pada suhu 1000° sampai bobot tetap, menggunakan lebih kurang 1 g yang ditimbang saksama.

**Besi larut dalam air** Asamkan setengah bagian sisa filtrat yang diperoleh pada uji *Keasaman-kebasaan dan zat yang larut* dengan *asam klorida P* dan tambahkan 1 ml *kalium ferisianida LP*: tidak terjadi warna biru.

### Arsen, Logam berat dan Timbal

*Larutan uji* Masukkan 10,0 g zat ke dalam labu 250 ml dan tambahkan 50 ml *asam klorida 0,5 N*.

Refluks di atas tangas uap selama 30 menit, dinginkan. Pindahkan campuran ke dalam gelas piala dan biarkan mengendap. Enaptuangkan beningan, saring melalui kertas saring tebal dan kuat dengan kecepatan sedang ke dalam labu tentukur 100-ml; biarkan sebanyak mungkin endapan dalam gelas piala. Cuci endapan dan gelas piala tiga kali, tiap kali dengan 10 ml air panas, enaptuangkan tiap hasil cucian melalui penyaring ke dalam labu. Akhirnya cuci kertas saring dengan 15 ml air panas, dinginkan dan saring pada suhu kamar, encerkan dengan air sampai tanda. Gunakan *Larutan uji* ini untuk pengujian berikut:

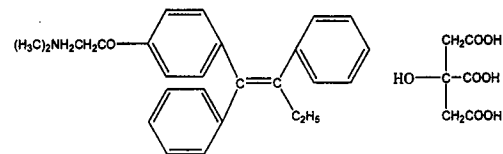
**Arsen <321> Metode I** Tidak lebih dari 3 bpj; lakukan penetapan menggunakan 10 ml *Larutan uji*.

**Logam berat <371>** Tidak lebih dari 40 bpj; lakukan penetapan menggunakan 5 ml *Larutan uji*.

**Timbal <401>** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan menggunakan 5 ml *Larutan uji*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TAMOKSIFEN SITRAT Tamoxifen Citrate



(*Z*)-2-[*p*-(1,2-Difenil-1-butenil) fenoksi]-*N,N*-dimetil etilamin sitrat (1:1) [54965-24-1]

$C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$

BM 563,65

Tamoksifen Sitrat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, halus, putih

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air, dalam aseton, dalam kloroform dan dalam etanol; mudah larut dalam metanol.

Meleleh pada lebih kurang 142° dengan penguraian.

**Baku pembanding** *Tamoksifen Sitrat BPF1*; Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam lemari pendingin, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tamoksifen Sitrat BPF1*, menunjukkan pita tunggal spektrum pada 1700  $cm^{-1}$  hingga 1740  $cm^{-1}$ .

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan dalam *metanol P* (20 µg per ml), menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tamoksifen Sitrata BPFI*.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,2%.

**Isomer-E** Tidak lebih dari 0,3%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat larutan dalam *metanol P* yang mengandung 320 ml air, 2 ml *asam asetat glasial P* dan 1,08 g *natrium 1-oktansulfonat P* per liter.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tamoksifen Sitrata BPFI*; larutkan dalam *Fase gerak*, jika perlu encerkan bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 600 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, lakukan seperti tertera pada *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L11*. Laju alir lebih kurang 0,7 ml per menit. Lakukan kromatografi dengan 5 kali penyuntikan ulang *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama: simpangan baku relatif tidak lebih dari 3,0% dan waktu retensi relatif puncak minor isomer-E terhadap isomer-Z tidak lebih dari 0,93.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Ukur respons puncak minor isomer-E *Larutan baku* dan *Larutan uji*. Hitung jumlah dalam mg isomer-E,  $C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$ , dari zat yang digunakan dengan rumus:

$$0,05 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar isomer-E sebagai sitrat dalam µg per ml, seperti yang dinyatakan dalam *Tamoksifen Sitrata BPFI* dalam *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak minor *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

#### Cemaran sejenis

Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan uji A* Dispersikan lebih kurang 3 g dalam 100 ml air dalam corong pisah. Setelah 10 menit, tambahkan 50 ml *natrium hidroksida 0,5 N*, kocok. Ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 50 ml *eter P*, dan kumpulkan ekstrak. Cuci ekstrak dengan 20 ml air, buang lapisan air dan keringkan lapisan eter dengan *natrium sulfat anhidrat P*. Uapkan lapisan eter dengan *gas nitrogen P* dan keringkan dalam hampa udara pada suhu kamar selama 2 jam. Timbang saksama 1,5 g residu, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml,

tambahkan 5,0 ml campuran *piridin P-anhidrida asetat P* (95:5) dan panaskan pada suhu 60° selama 10 sampai 15 menit. Dinginkan, encerkan dengan campuran pelarut yang sama sampai tanda.

*Larutan uji B* Encerkan *Larutan uji A* dengan campuran *piridin P-anhidrida asetat P* (95:5) hingga kadar 1:200.

*Sistem kromatografi* Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 1 m x 4 mm berisi bahan pengisi 5% fase cair *G17*. Pada partikel penyangga *SIAB* ukuran 100 mesh sampai 120 mesh, kondisikan pada suhu 300° selama 24 jam. Pertahankan suhu kolom dan suhu injektor pada lebih kurang 260° dan detektor pada lebih kurang 300°. Gunakan *helium P* kering sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 60 ml per menit. Pada kromatogram yang sesuai, simpangan baku relatif 5 kali penyuntikan *Larutan uji B* tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 2 µl) *Larutan uji A* dan *Larutan uji B* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dari 0,1 sampai 5,0 relatif terhadap waktu retensi puncak utama. Ukur masing-masing respons puncak kromatogram, selain puncak pelarut dan puncak tamoksifen dari *Larutan uji A* dan hitung jumlahnya. Tidak ada respons puncak yang lebih besar dari total respons puncak tamoksifen *Larutan uji B* (0,5%) dan jumlah respons puncak tidak lebih besar dari dua kali respons puncak tamoksifen *Larutan uji B* (1,0%).

**Besi <331>** Tidak lebih dari 50 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama 1,0 g zat, masukkan ke dalam krus, tambahkan *asam sulfat P* sampai zat basah dan pijarkan hati-hati pada suhu rendah hingga mengarang (krus boleh ditutup longgar selama pemijaran). Tambahkan 2 ml *asam nitrat P* dan 5 tetes *asam sulfat P*, panaskan hati-hati hingga asap putih habis. Pijarkan, sebaiknya dalam tanur pada suhu 500° hingga 600°, hingga semua arang terbakar habis. Dinginkan, tambahkan 10 ml *asam klorida 0,1 N* panas dan digesti selama lebih kurang 5 menit. Masukkan semua isi krus dengan bantuan sedikit air ke dalam labu tentukur 50-ml, bilas dengan air dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam tabung pembanding warna, encerkan dengan air hingga 45 ml, tambahkan 2 ml *asam klorida P* dan campur.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 10 bpj.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 1,0 g zat, larutkan dalam 150 ml *asam asetat glasial P*. Titrasi dengan larutan *asam perklorat 0,1 N LV*, tentukan titik akhir titrasi dengan elektrode indikator dan elektrode perak-perak klorida sebagai elektrode baku.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 56,36 mg  $C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

**TABLET TAMOKSIFEN SITRAT**  
**Tamoxifen Citrate Tablet**

Tablet Tamoksifen Sitrata mengandung Tamoksifen,  $C_{26}H_{29}NO$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tamoksifen Sitrata BPFI*; Tidak boleh dikeringkan, simpan dalam lemari pendingin, dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan ultraviolet *Larutan uji*, seperti tertera pada *kseragaman kandungan*, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Larutan baku*.

B. Masukkan 1 tablet ke dalam tabung reaksi 15 ml, tambahkan 4 ml *piridin P* dan 2 ml *anhidrida asetat P*: segera terjadi warna kuning pada pengocokan. Kemudian panaskan hati-hati di atas tangas uap: terbentuk warna merah muda sampai merah tua, menunjukkan adanya ion sitrat.

**Disolusi** <1231>

*Media disolusi*: 1000 ml *asam klorida 0,02 N*.

*Alat tipe 1*: 100 rpm.

*Waktu*: 30 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{26}H_{29}NO$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* dan serapan larutan baku *Tamoksifen Sitrata BPFI* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 275 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang 75% (Q)  $C_{26}H_{29}NO$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Kseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

*Prosedur kseragaman kandungan*

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tamoksifen Sitrata BPFI*; larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 15 µg per ml.

*Larutan uji* Masukkan 1 tablet ke dalam labu tentukur 100-ml, hancurkan dengan batang pengaduk. Tambahkan lebih kurang 75 ml *metanol P* dan kocok selama lebih kurang 5 menit. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda, campur dan saring. Pipet 10 ml filtrat ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* menggunakan kuvet 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 275 nm, dengan *metanol P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg tamoksifen,  $C_{26}H_{29}NO$ , dalam tablet yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{371,52}{563,65}\right)\left(\frac{TC}{D}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

371,52 adalah bobot molekul tamoksifen dan 563,65 adalah bobot molekul tamoksifen sitrat; *T* adalah jumlah tamoksifen dalam mg per tablet; *C* adalah kadar *Tamoksifen Sitrata BPFI* dalam µg per ml *Larutan baku*; *D* adalah kadar tamoksifen dalam µg per ml larutan tablet berdasarkan jumlah per tablet yang tertera pada etiket dan faktor pengenceran; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat larutan dalam *metanol P*, yang mengandung 320 ml air, 2 ml *asam asetat glasial P*, dan 1,08 g *natrium 1-oktansulfonat P* per liter.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tamoksifen Sitrata BPFI*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 200 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 20 mg tamoksifen, masukkan ke dalam tabung sentrifuga 50-ml bertutup. Tambahkan 30 ml *metanol P* ke dalam tabung, kocok menggunakan pengocok mekanik selama tidak kurang dari 15 menit. Sentrifus pada lebih kurang 1000 rpm, pipet 5 ml beningan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. *Kromatograf cair kinerja tinggi* dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L11*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* sebanyak lima kali penyuntikan ulang, rekam kromatogram dan ukur respon puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif tidak lebih dari 3,0%.

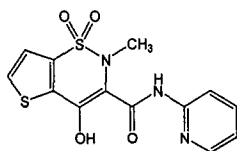
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tamoksifen,  $C_{26}H_{29}NO$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$0,15C\left(\frac{371,52}{563,65}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

371,52 adalah bobot molekul tamoksifen dan 563,65 adalah bobot molekul tamoksifen sitrat; *C* adalah kadar *Tamoksifen Sitrata BPFI* dalam µg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## TENOKSIKAM Tenoxicam



4-Hidroksi-2-metil-N-(piridin-2-il)-2H-tieno[2,3-e] 1,2-tiazin-3-karboksamida 1,1-dioksida [59804-37-4]  
 $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$  BM 337,4

Tenoksikam mengandung, tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning, menunjukkan polimorfisme.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; agak sukar larut dalam metilen klorida; sangat sukar larut dalam etanol; larut dalam larutan asam atau basa.

**Baku pembanding** Tenoksikam BPF1; Asam salisilat BPF1, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Tenoksikam BPF1. Jika spektrum yang berasal dari zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat dan baku pembanding secara terpisah dalam sesedikit mungkin metilen klorida P, uapkan di atas tangas air hingga kering dan gunakan residu untuk penetapan.

**Kejernihan** Larutkan 100 mg zat dalam 20 ml metilen klorida P: larutan jernih.

**Logam berat** <371> Metode IV Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan menggunakan 500 mg zat dan 5 ml Larutan baku timbal (2 bpj).

**Air** <1031> Metode 1A Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Pelarut* Buat campuran amonia P-metanol P (4:96).

*Fase gerak* Buat campuran asam format anhidrat P-metanol P-aseton P-metilen klorida P (5:5:20:70).

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga 5,0 ml.

*Larutan baku 1* Pipet 1 ml *Larutan uji* ke dalam labu tentukur 20-ml, encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 20-ml, encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Timbang saksama lebih kurang 20 mg Tenoksikam BPF1 dan 20 mg Asam Salisilat BPF1, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga 5,0 ml.

*Larutan baku 3* Timbang saksama lebih kurang 20 mg piridin-2-amina P, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga 5,0 ml. Encerkan 2 ml larutan ini dengan *Pelarut* hingga 50,0 ml.

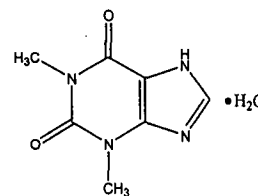
**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 10  $\mu$ l *Larutan uji*, *Larutan baku 1*, 2 dan 3 pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub>. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat lebih kurang 15 cm. Angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan di udara amati di bawah lampu ultraviolet 254 nm. Bercak *Larutan uji* yang sesuai dengan piridin-2-amina tidak lebih intensif dari bercak *Larutan baku 3* (0,2%). Bercak lain selain bercak utama dan bercak yang sesuai dengan piridin-2-amina *Larutan uji*, tidak lebih intensif dari bercak *Larutan baku 1* (0,25%). Uji tidak valid kecuali jika kromatogram yang diperoleh dari *Larutan baku 2* menunjukkan 2 bercak yang jelas terpisah.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, larutkan dalam 5 ml asam format anhidrat P. Tambahkan 70 ml asam asetat anhidrat P. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M LV. Tetapkan titik akhir secara potensiometri.

Tiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 33,74 mg  $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$

**Wadah dan penyimpanan** Simpan dalam wadah terlindung cahaya.

## TEOFILIN Theophylline



*Teofilin monohidrat* [5967-84-0]

$C_7H_8N_4O_2 \cdot H_2O$

Anhidrat [58-55-9]

BM 198,18

BM 180,17

Teofilin mengandung satu molekul air hidrat atau anhidrat. Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_7H_8N_4O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; tidak berbau; rasa pahit; stabil di udara.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; tetapi lebih mudah larut dalam air panas; mudah larut dalam larutan alkali hidroksida dan dalam amonia; agak sukar larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembeding** *Teofilin BPFI*; merupakan bentuk anhidrat. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Teofilin BPFI*.

B. Waktu retensi relatif puncak utama terhadap baku internal pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Jarak lebur** <1021> Antara 270° dan 274°, rentang antara awal dan akhir peleburan tidak lebih dari 3°.

**Keasaman** Larutkan 500 mg zat dalam 75 ml air, tambahkan 1 tetes merah metil LP; diperlukan tidak lebih dari 1,0 ml natrium hidroksida 0,020 N untuk mengubah warna merah menjadi kuning.

**Susut pengeringan** <1121> Bentuk hidrat antara 7,5% dan 9,5%, bentuk anhidrat tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,15%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar* Masukkan 2,72 g natrium asetat trihidrat P ke dalam labu tentukur 2000-ml, tambahkan lebih kurang 200 ml air, kocok sampai larut sempurna. Tambahkan 10,0 ml asam asetat glasial P, encerkan dengan air sampai tanda.

*Fase gerak* Masukkan 70,0 ml asetonitril P ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan *Dapar* sampai tanda. Saring dan awaudarakan sebelum digunakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku internal* Timbang saksama lebih kurang 50 mg teobromin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 10,0 ml amonium hidroksida 6 N, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Teofilin BPFI*, larutkan dalam *Fase gerak*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan

20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Kadar larutan ini lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 50 ml *Fase gerak*, kocok secara mekanik hingga larut sempurna, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi LI. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara puncak teofilin dan teobromin tidak kurang dari 2,0; faktor ikutan teofilin tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,5%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (antara 10 µl dan 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif teofilin terhadap teobromin lebih kurang 1,6. Hitung jumlah dalam mg teofilin, C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

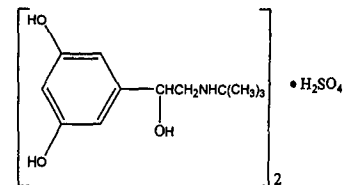
C adalah kadar *Teofilin BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*; R<sub>U</sub> dan R<sub>S</sub> berturut-turut adalah perbandingan respons puncak teofilin terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**Penandaan** Pada etiket harus tertera bentuk hidrat atau anhidrat.

**TERBUTALIN SULFAT**

**Terbutaline Sulfate**



Garam (±)-α-[(*tert*-Butilamino)metil]-3,5-dihidroksibenzil alkohol sulfat (2:1) [23031-32-5] (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> BM 548,65

Terbutalin sulfat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% ( $C_{12}H_{19}NO_3$ )<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur putih sampai putih abu-abu; tidak berbau atau berbau asam asetat lemah.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam asam klorida 0,1 N; sukar larut dalam metanol; tidak larut dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Terbutalin Sulfat BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan pada suhu ruang terkendali. *Senyawa Sejenis A Terbutalin Sulfat BPFi*, [3,5-dihidroksi- $\omega$ -butilaminoasetofenon sulfat]; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Terbutalin Sulfat BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Keasaman** Tidak lebih dari 0,3% sebagai asam asetat; lakukan penetapan dengan melarutkan 200 mg zat dalam 10 ml *air bebas karbon dioksida P* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,020 N* dari mikro buret hingga pH lebih kurang 6, tentukan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan sistem elektroda kaca kalomel; diperlukan tidak lebih dari 0,50 ml *natrium hidroksida 0,020 N*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,2%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 25 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Jumlah semua cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan pasangan ion, Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Terbutalin Sulfat BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar lebih kurang 3  $\mu$ g per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dengan rumus:

$$5000 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Terbutalin Sulfat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *W* adalah bobot *terbutalin sulfat* dalam mg *Larutan uji*; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak dari masing-masing cemaran dalam *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak *terbutalin* dalam *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan pasangan ion* Timbang lebih kurang 3,15 g amonium format P, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dengan 900 ml air, atur pH hingga lebih kurang 3,0 dengan penambahan *asam format P*, tambahkan 5,49 g *natrium 1-heksansulfonat P*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan pasangan ion-metanol P* (77:23), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama sejumlah *Terbutalin Sulfat BPFi* dan *Senyawa sejenis A Terbutalin Sulfat BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar berturut-turut lebih kurang 1,0 mg per ml dan 0,4 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Terbutalin Sulfat BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak*, secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 276 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis A *terbutalin sulfat* dan *terbutalin* berturut-turut 0,9 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis A *terbutalin sulfat* dan *terbutalin* tidak kurang dari 2,0; efisiensi kolom tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis; faktor ikutan puncak analit tidak lebih dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respon puncak utama. Hitung jumlah dalam mg



terbutalin sulfat,  $(C_{12}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$50C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Terbutalin Sulfat BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya, pada suhu terkendali.

### TABLET TERBUTALIN SULFAT Terbutaline Sulfate Tablet

Tablet Terbutalin Sulfat mengandung Terbutalin Sulfat  $(C_{12}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Terbutalin sulfat BPHI*, lakukan pengeringan pada suhu  $105^0$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan dalam suhu ruang terkendali. *Senyawa sejenis Terbutalin sulfat BPHI, [3,5-dihidroksi-butilaminoaseto fenon sulfat]*, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Disolusi** <1231> *Prosedur untuk gabungan sampel*

*Media disolusi:* 900 ml air.

*Alat tipe 1:* 100 rpm.

*Waktu:* 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $(C_{12}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$  yang terlarut, menggunakan prosedur seperti tertera pada *Penetapan kadar*, jika perlu lakukan modifikasi.

**Toleransi** Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $(C_{12}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan pasangan ion, Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Terbutalin sulfat*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Terbutalin Sulfat BPHI*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml,

tambahkan 10 ml *asam sulfat 0,05 N* dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 10 mg terbutalin sulfat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml *asam sulfat 0,05 N* dan 20 ml air, kocok selama 15 menit, encerkan dengan air sampai tanda, saring.

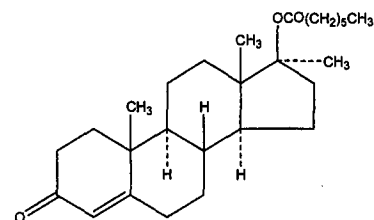
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg terbutalin sulfat,  $(C_{12}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Terbutalin Sulfat BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat pada suhu ruang terkendali.

### TESTOSTERON ENANTAT Testosterone Enantate



*Testosteron heptanoat* [315-37-7]  
 $C_{26}H_{40}O_3$

BM 400,60

Testosteron Enantat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{26}H_{40}O_3$ .

**Pemerian** Serbuk hablur; putih krim; tidak berbau atau sedikit berbau asam heptanoat.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; larut dalam eter dan dalam minyak nabati.

**Baku pembanding** *Testosteron Enantat BPHI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, simpan di tempat dingin, diamkan sampai mencapai suhu ruang sebelum dibuka.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan

maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Testosteron Enantat BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (10 µg per ml) dalam *etanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama dengan larutan *Testosteron Enantat BPFi*: daya serap masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 240 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Refluks 25 mg dengan 2 ml larutan: *kalium hidroksida P* dalam *metanol P* (1 dalam 100) selama 1 jam. Dinginkan campuran, tambahkan 10 ml air, saring dan cuci endapan dengan air sampai cucian terakhir bereaksi netral terhadap lakmus. Keringkan endapan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam, *testosteron* yang diperoleh melebur antara 151° dan 157°.

**Jarak lebur** <1021> Antara 34° dan 39°, suhu awal tangas tidak lebih dari 20°.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +77° dan +82°, dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *dioksan P* yang mengandung 200 mg per 10 ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%.

**Asam heptanoat bebas** Tidak lebih dari 0,16%; larutkan 500 mg zat dalam 10 ml *etanol P* yang telah dinetralkan hingga warna biru lemah setelah penambahan 2 sampai 3 tetes *biru bromotimol LP* dan titrasi segera dengan *natrium hidroksida 0,01 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 0,6 ml *natrium hidroksida 0,01 N*.

**Cemaran umum**<481>

*Larutan uji* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Larutan baku* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Fase gerak* Buat campuran *sikloheksan P-etilasetat P* (2:1).

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampakan bercak nomor 19.

*Batas* Tidak ada satu jenis cemaran lebih dari 1,0% dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap** <471> *Metode V* Memenuhi syarat.

*Pelarut* Gunakan *dimetil sulfoksida P*.

**Penetapan kadar**

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Testosteron Enantat BPFi*, larutkan dalam *kloroform P* dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap hingga kadar lebih kurang 40 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 40 mg, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *kloroform P* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *kloroform P* sampai tanda.

*Prosedur Pipet* masing-masing 5 ml *Larutan uji* dan *Larutan baku*, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca 50 ml, masukkan 5,0 ml *kloroform P* ke dalam labu lain yang serupa sebagai blangko. Pada masing-masing labu tambahkan 10,0 ml larutan yang berasal dari 375 mg *isoniazida P* dan 0,47 ml *asam klorida P* dalam 500 ml *metanol P*, kocok dan biarkan selama 45 menit. Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 380 nm terhadap blangko. Hitung jumlah dalam mg *testosteron enantat*,  $C_{26}H_{40}O_3$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Testosteron Enantat BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, di tempat sejuk.

## TESTOSTERON PROPIONAT Testosterone Propionate

*Testosteron propionat* [57-85-2]

$C_{22}H_{32}O_3$

BM 344,49

*Testosteron Propionat* mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{22}H_{32}O_3$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur, putih atau putih krim; tidak berbau; stabil di udara.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; mudah larut dalam *etanol*, dalam *dioksan*, dalam eter dan dalam pelarut organik lain; larut dalam minyak nabati.

**Baku pembanding** *Testosteron Propionat BPFi*; lakukan pengeringan pada hampa udara di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Testosteron Propionat BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (10 µg per ml) dalam *etanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama dengan larutan *Testosteron Propionat BPFi*: daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 241 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Menunjukkan reaksi *Identifikasi C* seperti tertera pada *Testosteron Enantat*.

**Jarak lebur** <1021> *Metode II* Antara 118° dan 123°.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +83° dan +90°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *dioksan P* yang mengandung 200 mg per 10 ml.

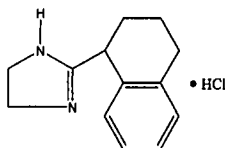
**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas *silika gel P* selama 4 jam.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Testosteron Enantat* kecuali penggunaan secara keseluruhan diganti dengan *Testosteron Propionat*. Hitung jumlah dalam mg  $C_{22}H_{32}O_3$ , dalam *testosteron propionat*, dengan rumus yang sama seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Testosteron Enantat*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## TETRAHIDROZOLIN HIDROKLORIDA

### Tetrahydrozoline Hydrochloride



2-(1,2,3,4-Tetrahydro-1-naftil)-2imidazolin monohidroklorida [522-48-2-5]  
 $C_{13}H_{16}N_2 \cdot HCl$  BM 236,74

Tetrahydrozolin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{13}H_{16}N_2 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Padatan; putih; tidak berbau. Melebur pada lebih kurang 256°, disertai penguraian.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air dan dalam etanol; sangat sukar larut dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** *Tetrahydrozolin Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan

maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tetrahydrozolin Hidroklorida BPFI*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (250 µg per ml) menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tetrahydrozolin Hidroklorida BPFI*: daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 264 nm dan 271 nm berbeda tidak lebih dari 4,0%.

C. Larutan (1 dalam 200) menunjukkan reaksi *Klorida cara A, B dan C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 50 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 400 mg dalam 23 ml air dan tambahkan 2 ml asam asetat 1N.

### Cemaran umum <481>

*Larutan uji* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Larutan baku* Gunakan pelarut *metanol P*.

*Fase gerak* Buat campuran *metanol P-asam asetat glasial P-air* (8:1:1).

*Penampak bercak* Gunakan teknik penampak bercak nomor 2 dilanjutkan dengan nomor 1.

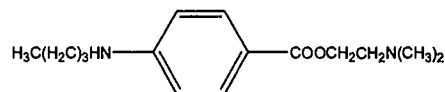
**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, larutkan dalam 60 ml *asam asetat glasial P*, panaskan jika perlu. Tambahkan 5 ml *anhidrida asetat P*, 5 ml *raksa(II) asetat LP* dan 3 tetes merah *kuinaldin LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 23,67 mg  $C_{13}H_{16}N_2 \cdot HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TETRAKAIN

### Tetracaine



2-(Dimetilamino)etil p-(butilamino)benzoat [94-24-6]  
 $C_{15}H_{24}N_2O_2$  BM 264,37

Tetrakain mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{15}H_{24}N_2O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Zat padat seperti lilin; putih atau kuning muda.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; larut dalam etanol, dalam eter, dalam benzen dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Tetrakain Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Larutkan 100 mg zat dalam 10 ml larutan *Asam klorida P* (1 dalam 120) dan tambahkan 1 ml larutan *kaliun tiosianat P* (1 dalam 4): terbentuk endapan hablur. Lakukan penghabluran kembali dari air dan keringkan pada suhu 80° selama 2 jam: melebur antara 130° dan 132°.

B. Timbang saksama dan larutkan lebih kurang 90 mg zat dalam 10 ml larutan *Asam klorida P* (1 dalam 120) dalam labu tentukur 500-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 2 ml *Dapar fosfat nomor 6; 10%; pH 6,0* seperti tertera pada *Dapar fosfat dalam Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>*, encerkan dengan air sampai tanda: spektrum serapan ultraviolet larutan yang diperoleh menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama dengan larutan *Tetrakain Hidroklorida BPFi* (1 dalam 100.000) dalam campuran air-dapar fosfat nomor 6; 10%; pH 6,0 (50:1); dan serapan jenis terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 310 nm berbeda tidak lebih dari 2,0% [*Catatan Bobot molekul tetrakain hidroklorida (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>HCl), adalah 300,83.*]

**Jarak lebur <1021>** Metode I Antara 41° dan 46°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 18 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Kemurnian kromatografi

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam kloroform P hingga kadar 50 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah asam 4-(butilamino)-benzoat dalam metanol P hingga kadar 0,2 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan kromatografi lapis tipis seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng silika gel 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi fase gerak kloroform P-metanol P-isopropilamino P (98:7:2) hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng dan biarkan kering di udara. Amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet 254 nm:

bercak yang diperoleh dari *Larutan uji* kecuali bercak utama, tidak lebih intensif dari bercak utama *Larutan baku* (0,4%) dan jumlah intensitas bercak seperti ini tidak lebih dari 0,8%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam bejana yang sesuai, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan 50 ml air, dinginkan hingga 15°. Tambahkan lebih kurang 25 g pecahan es dan titrasi perlahan-lahan dengan *natrium nitrit 0,1 M LV*, aduk terus menerus sampai pengaduk kaca yang dicelupkan ke dalam larutan titrasi menghasilkan cincin biru yang segera muncul bila digoreskan pada *kertas kanji iodida P*. Jika titrasi sempurna, titik akhir dapat muncul kembali sesudah campuran didiamkan selama 1 menit. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *natrium nitrit 0,1 M*  
setara dengan 26,44 mg *C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

#### TETRAKAIN HIDROKLORIDA Tetracaine Hydrochloride

*2-(Dimetilamino)etil p-(butilamino)benzoat monohidroklorida [136-47-0]*

*C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HCl*

BM 300,82

Tetrakain hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% *C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HCl*, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk, hablur, halus, putih; tidak berbau; rasa sedikit pahit diikuti rasa kebas; bersifat higroskopis. Larutan bersifat netral terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; larut dalam etanol; tidak larut dalam benzen dan dalam eter. Melebur pada lebih kurang 148°. Pada 2 polimorfis yang lain dapat melebur masing-masing pada lebih kurang 134° dan 139°. Campuran 2 bentuk polimorfis tersebut dapat melebur antara 134° sampai 147°.

**Baku pembanding** *Tetrakain Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 18 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Endotoksin BPFi*; [*Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat larutkan dalam air hingga 250,0 ml. Pipet 5 ml masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 2 ml *Dapar nomor 6*; 10%; pH 6,0; seperti tertera pada *Dapar fosfat dalam Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi* <131>, kemudian encerkan dengan air sampai tanda; spektrum serapan ultraviolet larutan menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tetrakain Hidroklorida BPFi*; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat pada panjang gelombang lebih kurang 310 nm berbeda tidak lebih dari 2,0%.

B. Larutkan 100 mg zat dalam 10 ml air dan tambahkan 1 ml larutan *kaliun tiosianat P* (1 dalam 4) terbentuk endapan hablur. Hablurkan kembali endapan dengan air dan keringkan pada suhu 80° selama 2 jam; melebur antara 130° dan 132°.

C. Larutan 100 mg zat dalam 5 ml air menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji identifikasi umum* <291>.

Air <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0%.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera *Tetrakain hidroklorida steril*, memenuhi syarat uji *Sterilitas* <71> dan *Endotoksin bakteri* <201> seperti tertera pada *Tetrakain Hidroklorida untuk Injeksi*. Jika pada etiket tertera *tetrakain hidroklorida* harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, harus memenuhi syarat uji *Endotoksin bakteri* <201> seperti tertera pada *Tetrakain Hidroklorida untuk Injeksi*.

### Kemurnian kromatografi

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam air hingga kadar 50 mg per ml.

*Larutan baku* dan *Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Tetrakain*, mulai dari "Buat *Larutan baku*"

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan 50 ml air. Lakukan seperti tertera pada *Titration Nitrimetri* pada *Titration* <701>, mulai dari "dinginkan hingga suhu lebih kurang 15°".

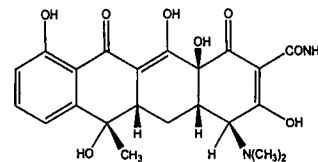
Tiap ml *natrium nitrit 0,1 M*  
setara dengan 30,08 mg  $C_{15}H_{24}N_2O_2.HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Jika digunakan untuk sediaan injeksi, etiket menyatakan steril atau harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan injeksi atau sediaan steril lainnya.

## TETRASIKLIN

### Tetracycline



(4*S*, 4*aS*, 5*aS*, 12*aS*)-4-(Dimetilamino)-1, 4, 4*a*, 5, 5*a*, 6, 11, 12*a*-oktahidro-3, 6, 10, 12, 12*a*-pentahidroksi-6-metil-1, 11-diokso-2-naftasena-karboksamida [60-54-8]

$C_{22}H_{24}N_2O_8$

BM 444,43

Trihidrat [6416-04-2]

BM 498,49

Tetrasiklin mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 975 µg tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , per ml dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning; tidak berbau. Stabil di udara tetapi pada pemaparan dengan cahaya matahari kuat menjadi gelap. Dalam larutan dengan pH lebih kecil dari 2, potensi berkurang, dan cepat rusak dalam larutan alkali hidroksida.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam larutan asam encer dan dalam larutan alkali hidroksida; sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Tetrasiklin Hidroklorida BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat sejuk. *4-Epianhidro tetrasiklin Hidroklorida BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan (20 µg per ml) dalam *natrium hidroksida 0,25 N*, 6 menit setelah penyiapan menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tetrasiklin Hidroklorida BPFi*; daya serap dihitung terhadap zat anhidrat pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 380 nm antara 104,45% dan 111,95% terhadap *Tetrasiklin Hidroklorida BPFi*, dengan memperhitungkan potensi baku pembanding.

B. Waktu retensi puncak utama tetrasiklin dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

C. Pada 0,5 mg zat tambahkan 2 ml *asam sulfat P*: terjadi warna merah keunguan. Tambahkan larutan ke dalam 1 ml air: terjadi warna kuning.

D. Buat larutan zat dalam *metanol P* yang mengandung tetrasiklin hidroklorida 1 mg per ml. Lakukan penetapan menggunakan *Metode II* seperti tertera pada *Identifikasi Tetrasiklin* <271>.

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 7,0; lakukan penetapan menggunakan suspensi dalam air yang mengandung 10 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 13,0%.

**4-Epianhidrotetrasiklin** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer, Sistem kromatografi, Larutan uji dan Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah 4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPF1, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Prosedur* Menggunakan kromatogram *Larutan baku* dan *Larutan uji*, hitung persentase 4-epianhidrotetrasiklin dalam tetrasiklin yang digunakan dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_E}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_E$  adalah kadar 4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPF1 dalam µg per ml *Larutan baku*;  $W$  adalah bobot dalam mg tetrasiklin yang digunakan dalam *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak 4-epianhidrotetrasiklin yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -260° dan -280°; dihitung terhadap zat anhidrat.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 50 bpj.

### Penetapan kadar

*Pengencer, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tetrasiklin Hidroklorida*.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 45 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tetrasiklin Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam µg tetrasiklin,  $C_{22}H_{24}N_2O_8$ , yang setara dalam tiap mg tetrasiklin yang digunakan dengan rumus:

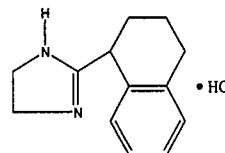
$$100 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$W$  adalah bobot dalam mg tetrasiklin dalam *Larutan uji*;  $C$ ,  $P$ ,  $r_U$  dan  $r_S$  sesuai dengan yang tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tetrasiklin Hidroklorida*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan Etiket** menunjukkan hanya digunakan untuk pembuatan obat nonparenteral.

## TETRASIKLIN HIDROKLORIDA Tetracycline Hydrochloride



4-(Dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diookso-2-naftasenakarboxamidamonohidro klorida [64-75-5]

$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$

BM 480,90

Tetrasiklin Hidroklorida mempunyai potensi tidak kurang dari 900 µg  $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$  per mg.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning; tidak berbau; agak higroskopis. Stabil di udara tetapi pada pemaparan terhadap cahaya matahari yang kuat dalam udara lembab menjadi gelap. Dalam larutan dengan pH lebih kecil dari 2, potensi berkurang, dan cepat rusak dalam larutan alkali hidroksida.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam larutan alkali hidroksida dan dalam larutan karbonat; sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. 4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPF1; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Zat yang dikeringkan bersifat higroskopik. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering. *Endotoksin BPF1 [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.];* Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida  $P$  menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (20 µg per ml) dalam natrium hidroksida 0,25 N, 6 menit setelah penyiapan, larutan menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*; daya serap dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang

gelombang serapan maksimum lebih kurang 380 nm antara 96,0% dan 104,0% dari *Tetrasiklin Hidroklorida BPFI*, dengan memperhitungkan potensi baku perbandingan.

C. Waktu retensi puncak utama tetrasiklin dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

D. Tambahkan 2 ml *asam sulfat P* pada 0,5 mg zat; menunjukkan warna merah keunguan. Masukkan larutan ke dalam 1 ml air: warna menjadi kuning.

E. Menunjukkan reaksi tetrasiklin *Metode II* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Tetrasiklin <271>*; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *metanol P* yang mengandung 1 mg per ml.

F. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A* seperti tertera pada *Uji Identifikasi umum <291>*.

**Sifat hablur <1091>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 1,8 dan 2,8; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 10 mg per ml.

**Rotasi jenis <1081>** Antara  $-240^\circ$  dan  $-255^\circ$ . Dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan 5 mg zat per ml *asam klorida 0,1 N*.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 50 bpi.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg zat.

**4-Epianhidrotetrasiklin** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer, Sistem kromatografi, Larutan uji dan Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah 4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPFI, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar 10 µg per ml.

*Prosedur* Menggunakan kromatogram *Larutan baku* dan *Larutan uji*, hitung persentase 4-epianhidrotetrasiklin hidroklorida dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_E}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_E$  adalah kadar 4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPFI dalam µg per ml *Larutan baku*;  $W$  adalah bobot dalam mg tetrasiklin hidroklorida dalam *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak 4-epianhidrotetrasiklin yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera bahwa tetrasiklin hidroklorida adalah steril, memenuhi syarat *Sterilitas*

<71> dan *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Tetrasiklin Hidroklorida untuk Injeksi*. Jika pada etiket tertera Tetrasiklin Hidroklorida harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, memenuhi syarat *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Tetrasiklin Hidroklorida untuk Injeksi*. Jika digunakan untuk pembuatan sediaan obat selain parenteral, tidak harus memenuhi uji *Endotoksin bakteri <201>*.

**Penetapan kadar** Lakukan *Penetapan kadar* dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pengencer* Buat campuran 680 ml amonium oksalat 0,1 M dan 270 ml dimetilformamida P.

*Fase gerak* Buat campuran 680 ml amonium oksalat 0,1 M, 270 ml dimetilformamida P dan 50 ml amonium fosfat dibasa 0,2 M. Jika perlu atur pH 7,6 sampai 7,7 menggunakan amonium hidroksida 3 N atau asam fosfat 3 N. Saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,5 µm atau lebih halus. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama, sejumlah *Tetrasiklin Hidroklorida BPFI*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Buat larutan dalam *Pengencer* yang mengandung lebih kurang 100 µg tetrasiklin hidroklorida dan 25 µg 4-epianhidrotetrasiklin hidroklorida per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm, kolom pelindung 3 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 10 µm, dan kolom analisis 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7 5 µm sampai 10 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif 4-epianhidrotetrasiklin dan tetrasiklin berturut-turut lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi,  $R$ , antara puncak 4-epianhidrotetrasiklin dan puncak tetrasiklin tidak kurang dari 1,2. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam µg tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ , per mg dengan rumus:

$$100 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tetrasiklin Hidroklorida BPF* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Tetrasiklin Hidroklorida BPF* dalam µg per mg; *W* adalah bobot dalam mg tetrasiklin hidroklorida dalam *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Jika digunakan untuk pembuatan injeksi atau sediaan steril lain, pada etiket harus dinyatakan steril atau harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi.

### KAPSUL TETRASIKLIN HIDROKLORIDA Tetracycline Hydrochloride Capsule

Kapsul Tetrasiklin Hidroklorida mengandung Tetrasiklin Hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 125,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tetrasiklin Hidroklorida BPF*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin. *4-Epianhidro tetrasiklin Hidroklorida BPF*; lakukan pengeringan dalam ruang hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Zat yang dikeringkan bersifat higroskopis. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama tetrasiklin dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

#### Disolusi <1231>

*Media disolusi*: 900 ml air

*Alat tipe* 2:75 rpm. Pertahankan jarak antara ujung dayung dan dasar wadah disolusi 45±5 mm.

*Waktu*: 60 menit; 90 menit untuk kapsul 500 mg.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$  yang terlarut dengan mengukur serapan aliquot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi* kemudian bandingkan dengan serapan larutan baku *Tetrasiklin Hidroklorida BPF* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 276 nm.

**Toleransi** Dalam waktu 60 menit harus larut tidak kurang dari 80%  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket; 90 menit untuk kapsul 500 mg.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 4,0%; lakukan pengeringan dalam botol bersumbat kapiler, pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg, pada suhu 60°

selama 3 jam, menggunakan lebih kurang 100 mg isi kapsul yang ditimbang saksama.

**4-Epianhidrotetrasiklin** Tidak lebih dari 3,0%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer, Sistem kromatografi, Larutan uji dan Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama *4-Epianhidro tetrasiklin Hidroklorida BPF*, larutkan dalam *Pengencer* hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Prosedur* Menggunakan kromatogram *Larutan baku* dan *Larutan uji*, hitung persentase *4-Epianhidrotetrasiklin hidroklorida* dalam kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_E}{T} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C<sub>E</sub>* adalah kadar *4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPF* dalam µg per ml *Larutan baku*; *T* adalah jumlah dalam mg tetrasiklin hidroklorida dalam *Larutan uji* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *4-Epianhidro tetrasiklin* yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

#### Penetapan kadar

*Pengencer, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi, dan Sistem kromatografi* Buat seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tetrasiklin Hidroklorida*.

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, keluarkan isi semua kapsul, dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama. Hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama sejumlah isi kapsul setara dengan lebih kurang 50 mg tetrasiklin hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan lebih kurang 50 ml *Pengencer*, campur, sonikasi selama lebih kurang 5 menit. Biarkan dingin, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda, saring.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tetrasiklin Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , dalam isi kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$\left( \frac{CP}{10} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tetrasiklin Hidroklorida BPF* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Tetrasiklin Hidroklorida BPF* dalam µg per ml; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.



## SALEP MATA TETRASIKLIN HIDROKLORIDA Tetracycline Hydrochloride Ophthalmic Ointment

Salep mata Tetrasiklin Hidroklorida mengandung Tetrasiklin Hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 125,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin. *4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPF1*; lakukan pengeringan dalam ruang hampa udara pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Zat yang dikeringkan bersifat higroskopis. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**Isi minimum** <861> Memenuhi syarat.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%; gunakan 20 ml campuran *toluen P-metanol P* (7:3) sebagai pengganti *metanol P* dalam labu titrasi.

**Partikel logam** <1061> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pengencer, Fase gerak, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tetrasiklin Hidroklorida*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 6 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda. Larutan mengandung tetrasiklin hidroklorida lebih kurang 0,12 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah salep setara dengan lebih kurang 300 mg tetrasiklin hidroklorida, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca, tambahkan 20 ml *sikloheksan P* dan kocok. Tambahkan 35 ml *metanol P* dan sonikasi selama lebih kurang 20 menit. Saring larutan ke dalam labu tentukur 100-ml dan bilas labu Erlenmeyer dengan 40 ml *metanol P*, saring bilasan melalui penyaring ke dalam labu tentukur. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml. Encerkan dengan *Pengencer* sampai tanda.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tetrasiklin Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$  dalam salep yang digunakan dengan rumus:

$$2,5CP \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *P* adalah potensi *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1* dalam  $\mu g$  per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tube salep mata.

## TETRASIKLIN FOSFAT KOMPLEKS Tetracycline Phosphate Complex

Tetrasiklin Fosfat Kompleks mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 750  $\mu g$  per mg tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning; agak berbau khas.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; sukar larut dalam metanol; sangat sukar larut dalam aseton.

**Baku pembanding** *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*, tidak boleh dikeringkan, simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin; *4-Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPF1*, lakukan pengeringan dalam ruang hampa udara pada suhu  $60^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Zat yang dikeringkan bersifat higroskopis. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan yang dibuat dengan menimbang saksama lebih kurang 40 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml. Tambahkan 2 ml *asam klorida 0,1 N*, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 75 ml air dan 5 ml *natrium hidroksida 5 N*, encerkan dengan air sampai tanda, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1* yang diperlakukan sama; serapan yang diukur pada saat 6 menit setelah penambahan 5 ml *natrium hidroksida 5 N* dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 380 nm antara 77,1% dan 86,9% dari serapan *Tetrasiklin Hidroklorida BPF1*, dengan memperhitungkan potensi baku pembanding.

B. Waktu retensi puncak utama tetrasiklin dari kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

C. Kocok 100 mg zat dengan 10 ml air, saring. Masukkan 1 ml filtrat ke dalam tabung silinder bertutup kaca, tambahkan 10 ml air, 2 ml *amonium molibdat LP*, 1 ml *timah klorida LP* dan 10 ml campuran *benzen P* dan *isobutil alkohol P* volume sama. Kocok kuat selama 1 menit dan biarkan lapisan terpisah: terjadi warna biru pada lapisan atas (menunjukkan adanya fosfat).

**Sifat hablur** <1091> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 2,0 dan 4,0; lakukan penetapan menggunakan suspensi dalam air yang mengandung 10 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 9,0%.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 0,2%. Lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat dengan mencampur 100 mg zat dengan 10 ml air, saring. Ke dalam 1 ml filtrat tambahkan 1 tetes *asam nitrat P* dan 1 tetes *perak nitrat LP*; kekeruhan yang terbentuk tidak lebih dari yang terdapat dalam 1 ml asam klorida 0,00057 N.

**Tetrasiklin** Tidak lebih dari 1,0%. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml, tambahkan 10 ml *dioksan P* dan kocok selama 2 menit. Biarkan hingga mengendap, enap tuangkan cairan ke dalam tabung sentrifuga 50 ml, dan sentrifus. Pipet 5 ml cairan jernih ke dalam gelas piala 50 ml, tambahkan 2 tetes *merah metil LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,01 N LV dalam dioksan P*, sampai titik akhir titrasi berwarna jingga. Lakukan penetapan blangko, jika perlu koreksi.

Tiap ml asam perklorat 0,01 N setara dengan 4,444 mg  $C_{22}H_{24}N_2O_8$  (tetrasiklin)

**4-Epianhidrotetrasiklin** Tidak lebih dari 2,0%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pelarut, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah 4-Epianhidrotetrasiklin *Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase 4-epianhidrotetrasiklin hidroklorida dalam zat dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_E}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_E$  adalah kadar 4-Epianhidrotetrasiklin *Hidroklorida BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku* dihitung terhadap zat anhidrat;  $W$  adalah bobot dalam mg tetrasiklin fosfat kompleks untuk membuat *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak 4-epianhidrotetrasiklin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pelarut* Buat campuran 680 ml *amonium oksalat 0,1 M* dan 270 ml *dimetilformamida P*.

*Fase gerak* Buat campuran 680 ml *amonium oksalat 0,1 M*, 270 ml *dimetilformamida P* dan 50 ml *amonium fosfat dibasa 0,2 M*. Jika perlu atur pH 7,6 sampai 7,7 dengan penambahan *amonium hidroksida 3 N* atau *asam fosfat 3 N*. Saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,5 µm atau lebih halus. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tetrasiklin Hidroklorida BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 60 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Larutan resolusi* Buat larutan dalam *Pelarut* yang mengandung lebih kurang 100 µg tetrasiklin hidroklorida dan 25 µg 4-epianhidrotetrasiklin hidroklorida per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm, kolom pelindung 3 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L7* dengan ukuran partikel 10 µm, dan kolom analisis 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L7* dengan ukuran partikel 5 sampai 10 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif 4-epianhidrotetrasiklin dan tetrasiklin berturut-turut lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi,  $R$ , antara puncak 4-epianhidrotetrasiklin dan puncak tetrasiklin tidak kurang dari 1,2. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{26}N_2O_8 \cdot HCl$ , yang setara dengan tiap mg tetrasiklin fosfat kompleks dengan rumus:

$$100 \left( \frac{CP}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Tetrasiklin Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $P$  adalah potensi *Tetrasiklin Hidroklorida BPFi* dalam µg per mg;  $W$  adalah bobot dalam mg tetrasiklin fosfat kompleks untuk membuat *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup kedap, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Pada etiket harus dinyatakan hanya untuk pembuatan sediaan non steril.

**KAPSUL TETRASIKLIN FOSFAT KOMPLEKS**  
**Tetracycline Phosphate Complex Capsule**

Kapsul Tetrasiklin Fosfat Kompleks mengandung tetrasiklin fosfat kompleks setara dengan tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 125,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tetrasiklin Hidroklorida BPHI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya di tempat dingin. *4-Epianhidro tetrasiklin Hidroklorida BPHI*; lakukan pengeringan dalam ruang hampa udara pada suhu 60° selama 3 jam sebelum digunakan. Zat yang dikeringkan bersifat higroskopis. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin dan kering.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama tetrasiklin pada kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 9,0%. Lakukan pengeringan terhadap 100 mg isi kapsul dalam botol bertutup kapiler pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 60° selama 3 jam.

**Disolusi** <1231>

*Media disolusi*: 900 ml asam klorida 0,1 N

*Alat tipe 1*: 100 rpm

*Waktu*: 30 menit

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot yang telah disaring, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*, dan serapan larutan baku *Tetrasiklin Hidroklorida BPHI* dalam media yang sama pada panjang gelombang 353 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**4-Epianhidrotetrasiklin** Tidak lebih dari 3,0%; Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pelarut, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah 4-*Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPHI*, larutkan dalam *Pelarut* hingga kadar lebih kurang 15 µg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

respons puncak utama. Hitung persentase 4-epianhidrotetrasiklin hidroklorida dalam isi kapsul dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_E}{T} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_E$  adalah kadar 4-*Epianhidrotetrasiklin Hidroklorida BPHI* dalam µg per ml *Larutan baku*;  $T$  adalah bobot dalam mg isi kapsul yang digunakan untuk membuat *Larutan uji* yang setara dengan tetrasiklin hidroklorida, seperti tertera pada etiket;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak 4-epianhidrotetrasiklin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Pelarut, Fase gerak, Larutan baku, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tetrasiklin fosfat kompleks*.

*Larutan uji* Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, ke luaran semua isi kapsul dan campur, bersihkan cangkang kapsul dan timbang saksama, hitung bobot rata-rata isi kapsul. Timbang saksama isi kapsul setara dengan lebih kurang 50 mg tetrasiklin hidroklorida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 50 ml *Pelarut*, kocok, sonikasi selama 5 menit. Biarkan hingga dingin, dan encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda, campur dan saring.

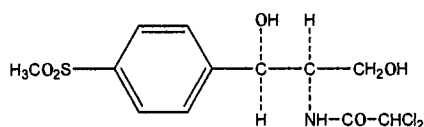
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, isi kapsul yang digunakan yang setara dengan tetrasiklin hidroklorida,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , dengan rumus:

$$\left( \frac{CP}{10} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C$  adalah kadar *Tetrasiklin Hidroklorida BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $P$  adalah potensi *Tetrasiklin Hidroklorida BPHI* dalam µg per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup kedap, tidak tembus cahaya.

## TIAMFENIKOL Thiamphenicol



2,2-Dikloro-N-( $\alpha R, \beta R$ )- $\beta$ -hidroksi- $\alpha$ -hidroksimetil-4-metilsulfonil(fenetil)asetamida [15138-45-3]  
 $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$  BM 356,2

Tiamfenikol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur halus atau hablur; putih sampai putih kekuningan; tidak berbau. Larutan dalam etanol mutlak memutar bidang polarisasi ke kanan; larutan dalam dimetilformamida memutar bidang polarisasi ke kiri.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air, dalam eter dan dalam etil asetat; agak sukar larut dalam etanol mutlak dan dalam aseton; larut dalam metanol; mudah larut dalam asetonitril dan dalam dimetilformamida; sangat mudah larut dalam dimetilasetamida.

**Baku pembanding** *Tiamfenikol BPF1*.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tiamfenikol BPF1*.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu$ l larutan dalam metanol P yang mengandung (1) 1% zat uji dan (2) *Tiamfenikol BPF1* 1%, pada jarak yang sama, 2,5 cm dari tepi bawah lempeng kromatografi silika gel GF<sub>254</sub>. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak etil asetat P-metanol P (97:3) hingga merambat 10 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap, amati di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bercak utama yang diperoleh dari Larutan uji (1) mempunyai harga  $R_f$  dan ukuran yang sama dengan bercak Larutan baku (2).

C. Pada 50 mg zat dalam krus porselen tambahkan 500 mg natrium karbonat anhidrat P dan panaskan di atas api langsung selama 10 menit. Biarkan dingin, larutkan residu dalam 5 ml asam nitrat 2 N dan saring. Pada 1 ml filtrat tambahkan 1 ml air. Larutan akhir menunjukkan reaksi Klorida cara A seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Keasaman-kebasaan** Kocok 100 mg zat dengan 20 ml air bebas karbon dioksida P, tambahkan 0,1 ml biru

*bromtimol LP*: tidak lebih dari 0,1 ml asam klorida 0,02 N LV atau natrium hidroksida 0,02 N LV diperlukan untuk mengubah warna larutan.

**Suhu lebur** <1021> Metode I 163° - 167°.

**Rotasi jenis** <1081> -21° - -24°; lakukan penetapan menggunakan larutan 5% dalam dimetilformamida P.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 100° sampai 105° hingga bobot tetap, menggunakan 1,0 g zat.

**Sisa pemijaran** <301> Metode II tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 2 g zat.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 200 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Batas Klorida* dalam *Klorokuin Sulfat* menggunakan Larutan uji yang dibuat sebagai berikut: Kocok 500 mg zat dengan 30 ml air selama 5 menit, saring. Pada 15 ml larutan ini tambahkan 1 ml asam asetat 2 N, campur.

**Logam berat** <371> Metode IV tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan menggunakan 1,0 g zat dan 1 ml Larutan baku timbal (10 bpj) sebagai larutan baku.

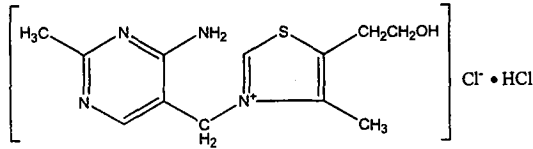
**Serapan cahaya** Serapan cahaya larutan 0,020%, yang dibuat dengan pemanasan pada suhu 40°, pada daerah 240 nm sampai 300 nm menunjukkan dua maksimum, pada 266 nm dan 273 nm. Serapan jenis pada 266 nm adalah 25 sampai 28 dan pada 273 nm adalah 21,5 sampai 23,5. Encerkan larutan di atas dengan air (1:20), serapan cahaya larutan ini pada daerah 200 nm sampai 240 nm menunjukkan maksimum hanya pada 224 nm. Serapan jenis pada 224 nm adalah 370 sampai 400.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, larutkan dalam 30 ml etanol P, tambahkan 20 ml larutan kalium hidroksida P 50%, kocok dan refluks selama 4 jam. Dinginkan, encerkan dengan 100 ml air dan netralkan dengan asam nitrat 2 N, tambahkan lagi 5 ml asam nitrat 2 N dan titrasi dengan perak nitrat 0,1 M LV, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml perak nitrat 0,1M  
setara dengan 0,01781g  $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya dan kelembaban.

## TIAMIN HIDROKLORIDA Thiamine Hydrochloride



Tiamin monohidroklorida[67-03-8]  
 $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$

BM 337,27

Tiamin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur, putih; bau khas lemah. Jika bentuk anhidrat terpapar udara dengan cepat menyerap air lebih kurang 4%. Melebur pada suhu lebih kurang  $248^{\circ}$  disertai peruraian.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; larut dalam gliserin; sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam eter dan dalam benzen.

**Baku pembanding** *Tiamin Hidroklorida BPF1*; tidak boleh dikeringkan, tetapkan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan pada suhu  $105^{\circ}$  selama 2 jam dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tiamin Hidroklorida BPF1*. Jika terdapat perbedaan, larutkan masing-masing zat uji dan baku pembanding dalam air, uapkan sampai kering, dan ulangi penetapan menggunakan sisa.

B. Larutan (1 dalam 50) menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**pH** <1071> Antara 2,7 dan 3,4; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 100).

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 5,0%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,2%.

**Serapan larutan** Tidak lebih dari 0,025. Larutkan 1,0 g zat dalam air hingga 10 ml, saring melalui penyaring kaca masir porositas halus. Ukur serapan pada panjang gelombang 400 nm, menggunakan air sebagai blangko.

**Nitrat** Pada 2 ml larutan (1 dalam 50) tambahkan 2 ml asam sulfat P, dinginkan, teteskan lewat dinding tabung 2 ml besi(II) sulfat LP; tidak terjadi cincin cokelat pada bidang batas kedua lapisan.

**Kemurnian kromatografi** Respons puncak sekunder tidak lebih besar dari 1,0% dari total respons puncak. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan A, Larutan B, dan Fase gerak* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 15 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 0,75 ml per menit.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 10  $\mu$ l *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan uji* selama tidak kurang dari tiga kali waktu retensi puncak utama, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan A* Buat larutan natrium 1-oktansulfonat 0,005 M dalam larutan asam asetat glasial P (1 dalam 100).

*Larutan B* Buat campuran metanol P-asetonitril P (3:2).

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan A-Larutan B* (60:40), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku internal* Pipet 2 ml metilbenzoat P ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tiamin Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam *Fase gerak*, hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Pipet 20 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, hingga diperoleh kadar 400  $\mu$ g per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. [Catatan Laju alir dapat disesuaikan untuk mendapatkan waktu retensi tiamin hidroklorida lebih kurang 12 menit.] Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara puncak tiamin dan puncak metilbenzoat tidak kurang dari 6,0; faktor ikutan untuk puncak tiamin tidak lebih dari 1,5; efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak

tiamin tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis, dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tiamin hidroklorida, C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.HCl, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$0,5C \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Tiamin Hidroklorida BPHI* dalam µg per ml *Larutan baku*; *R<sub>u</sub>* dan *R<sub>s</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak tiamin terhadap metilbenzoat dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI TIAMIN HIDROKLORIDA

### Injeksi Vitamin B1

#### Thiamine Hydrochloride Injection

Injeksi Tiamin Hidroklorida adalah larutan steril tiamin hidroklorida dalam *Air untuk Injeksi*. Mengandung Tiamin Hidroklorida, C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.HCl, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tiamin Hidroklorida BPHI*; tidak boleh dikeringkan; tetapkan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Endotoksin BPHI* [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Terbentuk endapan putih dengan *raksa(II) klorida LP*; dengan *iodum LP* terbentuk endapan cokelat merah; dengan *kalium raksa(II) iodida LP* dan dengan *trinitrofenol LP* terbentuk endapan.

B. Encerkan sejumlah volume injeksi dengan air hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml. Ke dalam 0,5 ml larutan tambahkan 5 ml *natrium hidroksida 0,5 N* kemudian tambahkan 0,5 ml *kalium heksasianoferat(III) LP* dan 5 ml *isobutanol P*, kocok kuat selama 2 menit, biarkan memisah. Sinari permukaan cairan dengan cahaya ultraviolet, tegak lurus dan amati cairan pada sudut 90°; meniskus udara-cairan berfluoresensi biru terang, yang akan hilang jika sedikit diasamkan, dan berfluoresensi kembali jika dibasakan.

C. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A, B, dan C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Endotoksin bakteri <201>** Mengandung tidak lebih dari 3,5 unit Endotoksin FI per mg tiamin hidroklorida.

**pH <1071>** Antara 2,5 dan 4,5.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *kalium fosfat monobasa 0,04 M-metanol P (55:45)*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku internal* Buat larutan metilparaben dalam *Fase gerak* dengan kadar lebih kurang 100 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tiamin Hidroklorida BPHI*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak*, hingga kadar lebih kurang 500 µg per ml. Pipet 10 ml larutan dan 10 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Kadar larutan ini lebih kurang 50 µg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 500 µg per ml. Pipet 10 ml larutan dan 10 ml *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif tiamin dan metil paraben berturut-turut adalah lebih kurang 0,35 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak tiamin dan metilparaben tidak kurang dari 6,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tiamin hidroklorida, C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.HCl, dalam tiap ml injeksi dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

*C* adalah kadar *Tiamin Hidroklorida BPHI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *L* adalah kadar tiamin hidroklorida dalam mg per ml injeksi seperti tertera pada etiket; *D* adalah kadar tiamin hidroklorida dalam mg per ml

*Larutan uji* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket dan faktor pengenceran;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak tiamin terhadap metil paraben dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I, terlindung cahaya.

## TABLET TIAMIN HIDROKLORIDA

### Tablet Vitamin B1

#### Thiamine Hydrochloride Tablet

Tablet Tiamin Hidroklorida mengandung Tiamin Hidroklorida,  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tiamin Hidroklorida BPF1*, tidak boleh dikeringkan, tetapkan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Gerus sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 10 mg zat, dengan 10 ml *natrium hidroksida 0,5 N*, saring. Gunakan 5 ml filtrat dan lanjutkan menurut cara yang tertera pada *Identifikasi B* dalam *Injeksi Tiamin Hidroklorida*, mulai dengan "kemudian tambahkan 0,5 ml kalium heksasianoferat(III) LP": terjadi reaksi spesifik.

B. Gerus sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 10 mg zat, dengan 10 ml air, saring. Filtrat memenuhi pengujian berikut:

- Pada 2 ml tambahkan *iodum LP*: terbentuk endapan cokelat merah.
- Pada 2 ml tambahkan *raksa(II) klorida LP*: terbentuk endapan putih.
- Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji identifikasi umum <291>*.

C. Pada sisa filtrat yang diperoleh dari *Identifikasi B*, tambahkan 1 ml *timbangan(II) asetat LP* dan 1 ml *natrium hidroksida 2,5 N*: terjadi warna kuning. Panaskan campuran di atas tangas uap selama beberapa menit: warna berubah menjadi cokelat, dan jika dibiarkan, terbentuk endapan *timbangan(II) sulfida* yang memisah.

#### Disolusi <1231> Prosedur untuk gabungan sampel.

*Media disolusi*: 900 ml air.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$  yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *metanol P-asam asetat glasial P-air (27:1:73)* yang mengandung 140 mg natrium 1-heksansulfonat tiap 100 ml. Jika perlu lakukan

penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama *Tiamin Hidroklorida BPF1*, larutkan dan encerkan dengan *Media disolusi* hingga kadar mendekati *Larutan uji*.

*Larutan uji* Alikuot, jika perlu encerkan dengan *Media disolusi*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm yang berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase tiamin hidroklorida,  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ , yang terlarut dengan rumus:

$$100C_S D \left( \frac{V}{L} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

$C_S$  adalah kadar *Tiamin Hidroklorida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $D$  adalah faktor pengenceran *Larutan uji*;  $V$  adalah volume media disolusi (900 ml);  $L$  adalah jumlah tiamin hidroklorida yang tertera pada etiket (dalam mg per tablet);  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak tiamin hidroklorida dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

#### Penetapan kadar

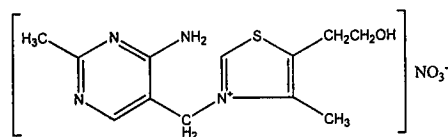
*Larutan baku* Buat seperti tertera pada *Larutan baku* dalam *Penetapan kadar Tiamin <651>*.

*Larutan uji* Masukkan tidak kurang dari 20 tablet ke dalam labu yang sesuai, isi separuh labu dengan *asam klorida 0,2 N*, panaskan di atas tangas uap sambil sering dikocok, hingga larut atau hancur. Dinginkan, pindahkan isi labu ke dalam yang sesuai, encerkan dengan *asam klorida 0,2 N* sampai tanda. Jika campuran tidak jernih, sentrifus atau saring melalui kertas saring yang tidak menyerap tiamin. Encerkan sejumlah filtrat secara kuantitatif dan bertahap dengan *asam klorida 0,2 N* hingga kadar tiamin 0,2  $\mu$ g per ml.

*Prosedur* Lakukan menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan kadar Tiamin <651>*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TIAMIN MONONITRAT Thiamine Mononitrate



Tiamin nitrat (garam) [532-43-4]

$C_{12}H_{17}N_5O_4S$

BM 327,36

Tiamin mononitrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur; putih; biasanya mempunyai bau khas lemah.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam kloroform.

**Baku pembeding** Tiamin Hidroklorida BPFI; tidak boleh dikeringkan, tetapkan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Pada 2 ml larutan (1 dalam 50) tambahkan 2 ml asam sulfat P, dinginkan secara hati-hati, tambahkan 2 ml besi(II) sulfat LP: terbentuk cincin berwarna cokelat pada batas kedua cairan.

B. Larutkan lebih kurang 5 mg zat dalam campuran 1 ml timbal(II) asetat LP dan 1 ml natrium hidroksida 2,5 N: terjadi warna kuning. Panaskan campuran selama beberapa menit di atas tangas uap; warna berubah menjadi cokelat dan diamkan: terbentuk endapan timbal(II) sulfida yang memisah.

C. Larutan memenuhi Identifikasi A seperti tertera pada Injeksi Tiamin Hidroklorida.

D. Larutkan lebih kurang 5 mg zat dalam 5 ml natrium hidroksida 0,5 N, lakukan pengujian seperti tertera pada Identifikasi B dalam Injeksi Tiamin Hidroklorida mulai dari "kemudian tambahkan 0,5 ml kalium heksasianoferat(III) LP": terjadi reaksi spesifik.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 7,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 50).

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam, menggunakan lebih kurang 500 mg zat yang ditimbang saksama.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,2%.

**Klorida** <361> Tidak lebih dari 0,06%; lakukan penetapan menggunakan 500 mg zat: kekeruhan yang terjadi tidak lebih kuat dari 0,40 ml asam klorida 0,020 N.

**Kemurnian kromatografi** Respons puncak sekunder tidak lebih besar dari 1,0% dari jumlah semua respons puncak. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan A, Larutan B, dan Fase gerak Lakukan seperti pada Penetapan kadar dalam Tiamin Hidroklorida.

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan Fase gerak hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml.

Sistem kromatografi dan Prosedur Lakukan seperti tertera pada Kemurnian kromatografi dalam Tiamin Hidroklorida.

### Penetapan kadar

Larutan A, Larutan B, Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Tiamin Hidroklorida.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam Fase gerak, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku internal, encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

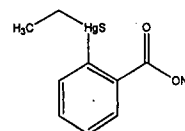
Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tiamin mononitrat,  $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ , dalam jumlah zat yang digunakan dengan rumus:

$$0,5C \left( \frac{327,36}{337,27} \right) \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

327,36 dan 337,27 berturut-turut adalah bobot molekul tiamin mononitrat dan tiamin hidroklorida; C adalah kadar Tiamin Hidroklorida BPFI µg per ml Larutan baku;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak tiamin terhadap metilbenzoat dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TIMEROSAL Thimerosal



Etil (natrium o-merkaptobenzoato) merkuri [54-64-8]

$C_9H_9HgNaO_2S$

BM 404,81



Timerosal mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_9H_9HgNaO_2S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; krim muda; berbau khas lemah; dipengaruhi oleh cahaya; pH larutan (1 dalam 100) lebih kurang 6,7.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; praktis tidak larut dalam eter; larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Timerosal BPFI*; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P hingga bobot tetap sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Timerosal BPFI*.

B. Pada larutan (1 dalam 100) tambahkan beberapa tetes perak nitrat LP: terbentuk endapan kuning pucat.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P hingga bobot tetap.

**Zat larut dalam eter** Residu tidak lebih dari 4 mg (0,8%); lakukan penetapan dengan cara sebagai berikut: timbang saksama 500 mg zat, kocok dengan 20 ml etil eter anhidrat P selama 10 menit. Saring, uapkan eter dalam wadah yang telah ditara, keringkan residu dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P dan timbang.

**Ion raksa** Tidak lebih dari 0,70%; lakukan penetapan dengan cara sebagai berikut:

*Pereaksi iodida* [Catatan Buat larutan segar setiap hari, simpan dalam wadah bersumbat dan terlindung cahaya.] Larutkan 33,20 g kalium iodida P dalam 75 ml air di dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan air sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 190 mg raksa(II) klorida P, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dalam 100 ml air dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan, ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Kadar raksa(II) klorida dalam Larutan baku lebih kurang 95 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 1* Pipet 10 ml Larutan uji ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji 2* Pipet 10 ml Larutan uji ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan baku, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* [Catatan Lindungi larutan dari cahaya sebelum pengukuran serapan.] Tandai 5 labu tentukur

10-ml dengan C, D, E, F dan R. Pipet 5 ml Larutan uji 1 ke dalam labu tentukur C dan D, pipet 5 ml Larutan uji 2 ke dalam labu tentukur E dan F, dan pipet 5 ml air ke dalam labu R. Encerkan labu C dan E dengan air sampai tanda. Encerkan labu D, F dan R dengan Pereaksi iodida sampai tanda. Ukur serapan ion tetraiodomerkurat dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 323 nm (diperoleh dari penetapan yang serupa yang disiapkan dengan mencampur 1,0 ml Larutan baku dengan 5,0 ml Pereaksi iodida, encerkan dengan air hingga 10 ml), gunakan air sebagai blangko. Rekam serapan larutan yang ada dalam labu C, D, E, F dan R berturut-turut sebagai  $A_C$ ,  $A_D$ ,  $A_E$ ,  $A_F$  dan  $A_R$ . Hitung persentase ion raksa dalam zat dengan rumus :

$$\left(\frac{200,59}{271,50}\right)\left(\frac{5C}{W}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

200,59 adalah bobot atom raksa; 271,50 adalah bobot molekul raksa(II) klorida;  $A_U$  adalah serapan zat yang diperoleh dari persamaan:

$$A_u = (A_D - A_R - A_C)$$

$A_S$  adalah serapan baku yang diperoleh dari persamaan :

$$A_S = (A_F - A_R - A_E - A_U)$$

C adalah kadar raksa(II) klorida dalam µg per ml Larutan baku; W adalah bobot zat dalam mg.

**Zat mudah terarangkan** <411> Larutkan lebih kurang 200 mg zat dalam 5 ml asam sulfat LP: warna larutan tidak lebih tua dari warna Larutan padanan J.

**Penetapan kadar** [Catatan Jika perlu Larutan baku dan Larutan uji dapat diencerkan secara kuantitatif dengan air, hingga diperoleh kadar yang sesuai, sehingga dapat memenuhi syarat linieritas atau daerah kerja alat.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Timerosal BPFI, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 25 ml air, kocok hingga larut dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan Larutan baku dan Larutan uji menggunakan spektrofotometer serapan atom yang sesuai seperti tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191> yang dilengkapi dengan lampu tabung katode raksa dan nyala udara-asetilen pada garis resonansi raksa panjang gelombang 254 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg timerosal,  $C_9H_9HgNaO_2S$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

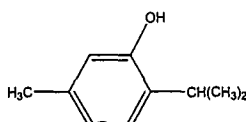
$$100C\left(\frac{A_u}{A_S}\right)$$

C adalah kadar *Timerosal BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $A_U$  dan  $A_S$  berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TIMOL

### Thymol



*p*-Simen-3-ol [89-83-8]  
 $C_{10}H_{14}O$

BM 150,22

Timol mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{10}H_{14}O$ .

**Pemerian** Hablur tidak berwarna kadang-kadang berbentuk besar-besar, atau serbuk hablur putih; bau aromatis seperti bau timi; rasa pedas. Dipengaruhi cahaya. Larutan dalam etanol netral terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam eter dan dalam minyak zaitun; larut dalam asam asetat glasial dan dalam minyak atsiri tertentu.

### Identifikasi

A. Gerus dengan kamfer atau mentol dalam jumlah yang sama: campuran mencair

B. Larutkan sedikit hablur dalam 1 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 6 tetes *asam sulfat P* dan 1 tetes *asam nitrat P*: cairan menunjukkan warna hijau kebiruan bila dilihat dengan cahaya terpantul.

C. Masukkan lebih kurang 1 g ke dalam tabung reaksi, tambahkan 5 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) dan panaskan dalam tangas air: larutan menjadi jernih, tidak berwarna atau berwarna merah pucat dan akan bertambah gelap bila dibiarkan, tanpa pemisahan tetesan-tetesan seperti minyak. Tambahkan beberapa tetes *kloroform P*, kocok campuran: terjadi warna lembayung.

**Jarak lebur** <1021> Antara 48° dan 51°, tetapi apabila dilebur, timol tetap cair pada suhu yang lebih rendah.

**Sisa tidak menguap** Tidak lebih dari 0,05%, lakukan penetapan menggunakan lebih kurang 2 g zat yang ditimbang saksama, uapkan di atas tangas uap dan keringkan pada suhu 105° hingga bobot tetap.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 100 mg, masukkan ke dalam labu iodum 250 ml dan larutkan dalam 25 ml *natrium hidroksida 1 N*.

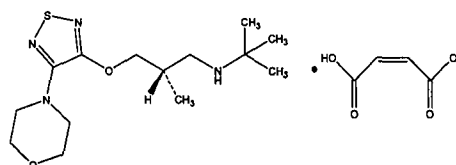
Tambahkan 20 ml larutan *asam klorida P* (1 dalam 2) panas dan segera titrasi dengan *brom 0,1 N LV* hingga 1-2 ml sebelum titik akhir yang telah diperhitungkan. Panaskan larutan hingga suhu antara 70° dan 80°, tambahkan 2 tetes *jingga metil LP* dan lanjutkan titrasi secara perlahan, goyang kuat-kuat setelah setiap penambahan. Jika warna jingga metil menjadi pucat, tambahkan 2 tetes *brom 0,1 N LV*, kocok selama 10 detik, tambahkan 1 tetes *jingga metil LP*, kocok kuat-kuat. Bila larutan menjadi merah lanjutkan titrasi tetes demi tetes sambil dikocok, hingga warna hilang. Ulangi penambahan titran dan *jingga metil LP* bergantian hingga warna merah hilang setelah penambahan *jingga metil LP*.

Tiap ml brom 0,1 N  
setara dengan 3,755 mg  $C_{10}H_{14}O$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TIMOLOL MALEAT

### Timolol Maleate



Garam (-)-1-(*tert*-butilamino)-3-[(4-morfolino-1,2,5-tiadiazol-3-il)oksi]-2-propanolmaleat (1:1) [26921-17-5]  
 $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$  BM 432,49

Timolol Maleat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk; putih hingga praktis putih; tidak berbau atau praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam etanol dan dalam metanol; agak sukar larut dalam kloroform dan dalam propilen glikol; tidak larut dalam eter dan dalam sikloheksan.

**Baku pembanding** *Timolol Maleat BPFI*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 100° hingga bobot tetap, sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Timolol Maleat BPFI*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 25 µg per ml dalam *asam klorida 0,12 N* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Timolol Maleat BPFI*; serapan masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 294 nm: berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Rotasi jenis <1081>** Antara -11,7° dan -12,5°, lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 50 mg per ml dalam *asam klorida 1,0 N* dengan menggunakan sumber cahaya lampu raksa pada 405 nm.

**pH <1071>** Antara 3,8 dan 4,3; lakukan penetapan menggunakan larutan dengan kadar 20 mg per ml.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 100° hingga bobot tetap.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P* (80:20:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Timolol Maleat BPFI*, larutkan dalam *metanol P* dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang sebagai berikut: 200 µg per ml (*Larutan baku A* = 0,4% dari zat uji); 100 µg per ml (*Larutan baku B* = 0,2% dari zat uji) dan 50 µg per ml (*Larutan baku C* = 0,1% dari zat uji).

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 10,0 ml *metanol P*.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji*, encerkan *Larutan baku* (A, B dan C) pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm, biarkan totolan mengering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan *Fase gerak* menguap. Masukkan lempeng ke dalam bejana yang berisi uap iodum selama 2 jam dan amati bercak di bawah cahaya ultraviolet 254 nm. Bandingkan intensitas bercak selain bercak utama *Larutan uji*, kecuali bercak anion maleat, dengan bercak utama *Larutan baku*: tidak ada bercak lain yang intensitasnya lebih kuat dari bercak utama *Larutan baku A* (0,4%), dan jumlah intensitas semua bercak lain, kecuali bercak lain yang intensitasnya lebih lemah dari bercak utama *Larutan baku C*: tidak lebih dari 1,0%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 800 mg zat, larutkan dalam lebih kurang 90 ml *asam asetat glasial P*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*,

tentukan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan elektrode platina dan elektrode kalomel berisi *litium perklorat 0,1 N LV* dalam *asam asetatanhidrat P* seperti tertera pada *Titrimetri <711>*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 43,25 mg C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>.C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TETES MATA TIMOLOL MALEAT Timolol Maleate Ophthalmic Solution

Tetes mata timolol maleat adalah larutan steril timolol maleat dalam air. Mengandung sejumlah C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>.C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, setara dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% Timolol (C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S), dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Timolol Maleat BPFI*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 100° hingga bobot tetap. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Encerkan sejumlah volume tetes mata dengan air hingga kadar lebih kurang 20 µg timolol per ml. Spektrum serapan ultraviolet larutan ini menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Timolol Maleat BPFI*.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat.

**pH <1071>** Antara 6,5 dan 7,5.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar fosfat pH 2,8* Larutkan 11,1 g *natrium fosfat monobasa P* dalam 1000 ml air, atur pH hingga 2,8±0,05 dengan penambahan *asam fosfat P*, saring dan awaudarakan.

*Pengencer* Buat campuran *asetonitril P-Dapar fosfat pH 2,8* (2:1).

*Fase gerak* Buat campuran *Dapar fosfat pH 2,8-metanol P* (65:35), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan *Sedapat mungkin lindungi baku pembanding, Larutan tetes mata, Larutan baku dan Larutan uji dari sinar matahari langsung.*]

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 34 mg *Timolol Maleat BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 15 ml *Pengencer*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume tetes mata setara dengan lebih kurang 5 mg timolol, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Tambahkan 15 ml *Pengencer*, encerkan dengan air sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 295 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 40°. Laju alir lebih kurang 1,2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0; efisiensi kolom tidak kurang dari 3600 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg timolol, C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S, dalam tiap ml tetes mata dengan rumus:

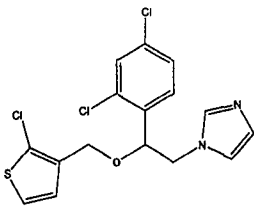
$$\left( \frac{316,43}{432,49} \right) \left( \frac{50C}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

316,43 dan 432,49 berturut-turut adalah bobot molekul timolol dan timolol maleat; *C* adalah kadar *Timolol Maleat BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume tetes mata dalam ml yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak timolol dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TIOKONAZOL

### Tioconazole



*1-[2,4-Dikloro-[[β-(2-kloro-3-tenil)-oksi]]fenetil]imidazol* [65899-73-2]

C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>OS

BM 387,71

Tioconazol mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>OS.

**Pemerian** Serbuk hablur putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; sangat larut dalam metil klorida; larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Tioconazol BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Senyawa Sejenis A Tioconazol BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya di tempat dingin. *Senyawa Sejenis B Tioconazol BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. *Senyawa Sejenis C Tioconazol BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tioconazol BPFi*.

B. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Buat campuran kloroform *P*-metanol *P*-asam asetat glasial *P* (40:5:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tioconazol BPFi*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml.

*Penampak bercak* Larutkan 850 mg *bismut subnitrat P* dalam 10 ml *asam asetat glasial P*, encerkan dengan air hingga 50 ml. Campur 10 ml larutan, 50 ml larutan *kaliun iodida P* (2 dalam 25) dan 20 ml *asam asetat glasial P*, encerkan dengan air hingga 100 ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm, biarkan kering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak* dan biarkan merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan *Fase gerak* menguap. Panaskan lempeng pada suhu 80° selama 5 menit dan amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak*, diamkan di udara selama 2 menit; kemudian semprot lagi dengan larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 20). Keringkan lempeng di udara selama 5 menit, dan amati bercak berwarna cokelat pada latar belakang kuning pucat. Harga *R<sub>f</sub>* bercak utama dari *Larutan uji*, sesuai dengan *Larutan baku*.

C. Waktu retensi puncak utama tioconazol dari kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,2%.

**Klorida <361>** Tidak lebih dari 0,05%; larutan 700 mg zat dalam *metanol P* tidak lebih keruh dari 0,50 ml asam klorida 0,020 N.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 50 bpi.

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 1,0% untuk masing-masing senyawa sejenis. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama masing-masing lebih kurang 1 mg *Senyawa Sejenis A Tiokonazol BPFi*, *Senyawa Sejenis B Tiokonazol BPFi* dan *Senyawa Sejenis C Tiokonazol BPFi*, larutkan dalam 15,0 ml *metanol P* dan kocok hingga larut sempurna.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dalam 15,0 ml *metanol P*, kocok hingga larut sempurna.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing senyawa sejenis A Tiokonazol, senyawa sejenis B Tiokonazol dan senyawa sejenis C Tiokonazol dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{W_i}{W_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$W_i$  adalah bobot dalam mg masing-masing *Baku pembanding senyawa sejenis FI* yang digunakan untuk membuat *Larutan baku*;  $W_U$  adalah bobot zat dalam mg yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing senyawa sejenis dari *Larutan uji* dan  $r_s$  adalah respons puncak dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair Kinerja Tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P-metanol P-air* (44:40:28). Saring dan awaudarkan. Tambahkan 2,0 ml *amonium hidroksida P*, campur. [Catatan Buat *Fase gerak segar setiap hari*.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tiokonazol BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 200 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 200 µg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 219 nm, pra-kolom berisi bahan pengisi L4 yang dipasang di antara pompa dan injektor, dan kolom 25 cm x 5 mm berisi bahan pengisi L1. [Catatan Ganti pra-kolom setiap hari.] Atur laju alir

hingga diperoleh waktu retensi untuk tiokonazol antara 12 menit dan 17 menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom yang ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 1000 lempeng teoritis; faktor ikutan untuk puncak analit tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

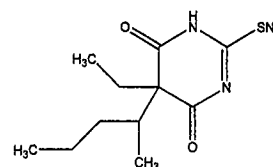
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase tiokonazol,  $C_{16}H_{13}Cl_3N_2OS$ , dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Tiokonazol BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar tiokonazol dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TIOPENTAL NATRIUM Thiopental Sodium



*Natrium (±)-5-etil-5-(1-metilbutil)-2-tiobarbiturat*  
[71-73-8]

$C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$

BM 264,32

Tiopental Natrium mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai hampir putih atau putih kekuningan sampai kuning kehijauan pucat; higroskopis; berbau tidak enak. Larutan bereaksi basa terhadap kertas lakmus, terurai jika dibiarkan, jika dididihkan terbentuk endapan.

**Kelarutan** Larut dalam air dan dalam etanol; tidak larut dalam benzen, dalam eter mutlak dan dalam heksan.

**Baku pembanding** *Tiopental BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Larutkan lebih kurang 500 mg zat dalam 10 ml air di dalam corong pisah, tambahkan 10 ml *asam klorida*

3 N dan ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 25 ml kloroform P. Uapkan kumpulan ekstrak kloroform hingga kering. Tambahkan 10 ml eter P, uapkan dan keringkan pada suhu 105° selama 2 jam; spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tiopental BPF*.

B. Pijarkan lebih kurang 500 mg zat: residu menunjukkan reaksi *Natrium* cara A dan B seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

C. Larutkan lebih kurang 200 mg zat dalam 5 ml *natrium hidroksida 1 N* dan tambahkan 2 ml *timbal(II) asetat LP*: terbentuk endapan putih dan perlahan bertambah gelap jika campuran ini dididihkan. Asamkan campuran ini dengan *asam klorida P* terbentuk uap hidrogen sulfida yang menghitamkan kertas *timbal(II) asetat LP*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan pada suhu 80° selama 4 jam.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Cemaran umum** <481>

*Larutan baku* Gunakan larutan 9,2 mg per ml *Tiopental BPF* dalam metanol P.

*Larutan uji* Gunakan larutan 10 mg zat per ml dalam metanol P.

*Volume penotolan* : 40 µl.

*Fase gerak* Buat campuran *toluen P-metanol P* (85:15).

*Penampak bercak* Gunakan teknik *penampak bercak nomor 1*.

**Penetapan kadar**

*Pelarut* Buat larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 250).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tiopental BPF*, larutkan dalam *Pelarut*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan larutan hingga kadar lebih kurang 5 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dan encerkan *Pelarut* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 500-ml, encerkan dengan *Pelarut* sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 304 nm, gunakan *Pelarut* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg tiopental natrium,  $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$20C \left( 1,091 \frac{A_u}{A_s} \right)$$

C adalah kadar *Tiopental BPF* dalam µg per ml *Larutan baku*; 1,091 adalah perbandingan bobot molekul

tiopental natrium dengan tiopental;  $A_u$  dan  $A_s$  berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## TIOPENTAL NATRIUM UNTUK INJEKSI Thiopental Sodium for Injection

Tiopental Natrium untuk Injeksi adalah campuran steril tiopental natrium dan natrium karbonat anhidrat sebagai dapar. Mengandung  $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$  tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tiopental BPF*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Endotoksin BPF* [*Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.*] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Kesempurnaan melarut** <901> Campur 800 mg zat dengan 10 ml *air bebas karbondioksida P*: setelah 1 menit, larutan jernih dan bebas dari zat padat yang tidak terlarut.

**Larutan terkonstitusi** Pada saat akan digunakan, memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Endotoksin bakteri** <201> Mengandung tidak lebih dari 1,0 Unit Endotoksin FI per mg tiopental natrium.

**pH** <1071> Antara 10,2 dan 11,2; lakukan penetapan menggunakan larutan yang digunakan untuk uji *Kesempurnaan melarut*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Identifikasi* dan *Logam berat* dalam *Tiopental Natrium*. Juga memenuhi syarat uji *Sterilitas* <71>, *Keseragaman Sediaan* <911> dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

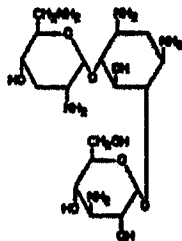
**Penetapan kadar** Larutkan isi dari 10 wadah dalam air secukupnya, encerkan secara saksama hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml. Encerkan larutan ini secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 250) hingga kadar lebih kurang 5 µg per ml. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tiopental Natrium*, mulai dari "Timbang saksama sejumlah *Tiopental BPF*" Hitung jumlah rata-rata dalam mg tiopental natrium,  $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ , dalam tiap wadah dengan rumus:

$$V C \left( 1,091 \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*V* adalah volume dalam ml larutan yang dibuat hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml; *C* adalah kadar *Tiopental BPF1* dalam µg per ml *Larutan baku*; 1,091 adalah perbandingan bobot molekul natrium tiopental dan tiopental; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam *Wadah untuk padatan steril* seperti tertera pada *Injeksi*, sebaiknya dari kaca Tipe III.

**TOBRAMISIN**  
**Tobramycin**



*O*-3-Amino-3-deoksi-α-*D*-glukopiranosil-(1→4)-*O*-[2,3,6-trideoksi-α-*D*-ribo-heksopiranosil-(1→6)-2-deoksi-*L*-streptamina [32986-56-4]  
C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> BM 467,52

Tobramisin mempunyai potensi tidak kurang dari 900 µg per mg C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk higroskopis, putih atau hampir putih.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; sangat sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

**Baku pembanding** *Tobramisin BPF1*, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin. Bersifat higroskopis. *Endotoksin BPF1*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

**Identifikasi**

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Campuran metanol *P*-amonium hidroksida *P*-kloroform *P* (60:30:25).

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Tobramisin BPF1*, larutkan dan encerkan dalam air hingga kadar 6 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat, larutkan dan encerkan dalam air hingga kadar 6 mg per ml.

*Larutan resolusi* Campuran sama banyak *Larutan baku* dan *Larutan uji*.

*Prosedur* Totolkan masing-masing 3 µl *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Larutan resolusi* pada jarak yang sama pada lempeng kromatografi silika gel *P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak*, eluasi dengan aliran berlanjut selama 5,5 jam. Angkat lempeng, biarkan fase gerak menguap dan panaskan lempeng pada suhu 110° selama 15 menit. Segera tentukan lokasi bercak, semprot lempeng dengan larutan *ninhidrin P* 1% dalam campuran *butil alkohol P*-*piridin P* (100:1); tobramisin memberikan bercak merah muda dan harga *R<sub>f</sub>*, *Larutan uji* dan *Larutan resolusi* sama dengan harga *R<sub>f</sub>*, *Larutan baku*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji terderivatisasi* sesuai dengan *Larutan baku terderivatisasi* yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

pH <1071> Antara 9,0 dan 11,0; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10).

*Air* <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 8%.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan dengan membasahkan sisa pengurangan dengan 2 ml *asam nitrat P* dan 5 tetes *asam sulfat P*.

*Logam berat* <371> *Metode III* Tidak lebih dari 30 bpj.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Campuran *natrium klorida P* (29,2 dalam 100)-*etanol P*-*air* (50:30:20).

*Larutan natrium hipoklorit encer* Encerkan 20 ml *natrium hipoklorit P* dengan air hingga 100 ml.

*Pereaksi kanji-kalium iodida LP* Larutkan 1,1 g *kalium iodida P* dalam 60 ml air, dididihkan selama 15 menit, dan tambahkan suspensi 1,5 g *kanji larut P* dalam 10 ml air secara perlahan. Tambahkan 25 ml air dan dididihkan selama 10 menit. Biarkan dingin, lalu encerkan dengan 100 ml air.

*Larutan uji* Timbang saksama 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dengan 7 ml air, atur pH hingga 5,5±0,4 dengan penambahan *asam sulfat 1 N*. Encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan baku* Encerkan *Larutan uji* dengan air secara kuantitatif hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan masing-masing 1 µl larutan pada lempeng kromatografi silika gel *P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan hingga *Fase gerak* mencapai tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat. Biarkan *Fase gerak* menguap, kemudian panaskan lempeng dalam oven pada suhu 110° selama 10 menit. Semprot lempeng yang masih panas dengan *Larutan natrium hipoklorit encer*. Keringkan lempeng hingga bagian lempeng yang disemprot memberikan warna biru pucat setelah diberi

1 tetes pereaksi kanji-kalium iodida LP, semprot lempeng dengan pereaksi kanji-kalium iodida LP sampai muncul bercak ungu kebiruan. Selain bercak utama tobramisin, tidak ada bercak dari Larutan uji yang lebih intensif dari bercak utama Larutan baku (1,0%).

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera tobramisin steril, memenuhi syarat uji Sterilitas <71> dan Endotoksin bakteri <201> seperti tertera pada Tobramisin untuk Injeksi. Jika pada etiket tertera tobramisin harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, memenuhi syarat uji Endotoksin bakteri <201> seperti tertera pada Tobramisin untuk Injeksi.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Fase gerak** Larutkan 2,0 g tris (hidroksimetil)aminometana P dalam lebih kurang 800 ml air, tambahkan 20 ml asam sulfat 1 N, encerkan dengan asetonitril P hingga 2000 ml, Diamkan sampai dingin, saring menggunakan penyaring dengan porositas 0,2 µm atau lebih kecil. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

**Pereaksi 2,4-dinitrofluorobenzen** Larutkan sejumlah 2,4-dinitrofluorobenzen P dalam etanol P hingga kadar 10 mg per ml. Larutan ini dapat digunakan selama 5 hari, jika disimpan dalam lemari pendingin pada saat tidak digunakan.

**Larutan persediaan tris(hidroksimetil) aminometana** Buat larutan persediaan tris(hidroksimetil) aminometan P dalam air hingga kadar 15 mg per ml. Larutan persediaan tris(hidroksimetil)aminometan ini dapat digunakan selama 1 bulan, jika disimpan dalam lemari pendingin pada saat tidak digunakan.

**Pereaksi tris(hidroksimetil)aminometan** Pindahkan 40 ml Larutan persediaan tris (hidroksimetil) aminometana ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan dimetil sulfoksida P, campur dan encerkan dengan dimetil sulfoksida P sampai tanda. Gunakan pereaksi ini selama 4 jam [Catatan Jika disimpan terendam dalam tangas air es suhu di bawah 10° pereaksi dapat digunakan sampai 8 jam.]

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 55 mg Tobramisin BPFi masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 1 ml asam sulfat 1 N dan air secukupnya hingga larut, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml kedua, encerkan dengan air sampai tanda dan campurkan. Larutan ini mengandung lebih kurang 0,22 mg Tobramisin BPFi per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 55 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 1 ml asam sulfat 1 N dan air secukupnya sampai larut, encerkan dengan air sampai tanda dan campur. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml kedua, encerkan dengan air sampai tanda.

**Prosedur derivatisasi** [Catatan Panaskan semua larutan pada suhu dan lama waktu pemanasan yang sama. Angkat dan letakkan pada tangas seluruh labu secara bersama-sama pada suhu konstan 60°.] Masukkan masing-masing 4,0 ml Larutan baku, Larutan uji dan air ke dalam labu tentukur 50-ml yang terpisah. Ke dalam masing-masing labu tentukur tambahkan 10 ml Pereaksi 2,4-dinitrofluorobenzen dan 10 ml Pereaksi tris(hidroksimetil)aminometan, kocok dan tutup. Letakkan labu ke dalam tangas dengan suhu konstan 60±2° dan panaskan selama 50 menit ± 5 menit. Angkat labu dari tangas dan diamkan selama 10 menit. Tambahkan asetonitril P ke dalam masing-masing labu hingga lebih kurang 2 ml di bawah tanda 50-ml, diamkan dingin sampai suhu ruang, encerkan dengan asetonitril P sampai tanda. Larutan tersebut adalah Larutan baku terderivatisasi, Larutan uji terderivatisasi dan Larutan blangko.

**Larutan resolusi** Buat larutan segar p-naftolbenzein P dalam asetonitril P hingga kadar lebih kurang 0,24 mg per ml. Masukkan 2,0 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan Larutan baku terderivatisasi sampai tanda dan segera gunakan.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 365 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1,2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan blangko, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: identifikasi puncak pelarut dan pereaksi. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif p-naftolbenzein dan tobramisin 0,6 dan 1,0; resolusi, R, antara dua puncak tidak kurang dari 4,0. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku terderivatisasi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: simpangan baku relatif pada penyuntikkan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** [Catatan Gunakan respons puncak.] Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku terderivatisasi dan Larutan uji terderivatisasi ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam µg tobramisin, C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$250 \left( \frac{CE}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Tobramisin BPFi dalam mg per ml Larutan baku; E adalah kesetaraan tobramisin dari Tobramisin BPFi dalam µg per mg; W adalah bobot zat uji yang ditimbang dalam mg; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji terderivatisasi dan Larutan baku terderivatisasi.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.



## INJEKSI TOBRAMISIN Tobramycin Injection

Injeksi Tobramisin adalah larutan steril Tobramisin Sulfat dalam air untuk injeksi, atau Tobramisin dalam air untuk injeksi yang dibuat dengan bantuan asam sulfat. Mengandung Tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Tobramisin BPFI;** tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin. Bersifat higroskopis. *Endotoksin BPFI; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.]* Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Encerkan sejumlah volume injeksi dengan air hingga kadar tobramisin 6 mg per ml dan lanjutkan seperti uji A yang tertera pada *Identifikasi* dalam *Tobramisin*, mulai dari "Totolkan masing-masing 3 ml larutan uji".

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji terderivatisasi* sesuai dengan *Larutan baku terderivatisasi* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Endotoksin bakteri <201>** Tidak lebih dari 2,00 unit Endotoksin FI per mg tobramisin.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat, jika diuji seperti tertera pada *Penyaringan membran* dalam uji *Sterilitas*.

**pH <1071>** Antara 3,0 dan 6,0.

**Bahan partikulat <751>** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Pereaksi 2,4-dinitrofluorobenzen, Pereaksi tris (hidroksimetil)aminometana, Larutan baku, Prosedur derivatisasi, Larutan resolusi dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tobramisin*.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume injeksi, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tobramisin*. Hitung jumlah dalam mg tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , dalam tiap ml injeksi dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tobramisin BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *L* adalah jumlah tobramisin yang tertera pada etiket, dalam mg per ml; *D* adalah kadar tobramisin dalam mg per ml *Larutan uji* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket, volume yang digunakan dan faktor pengenceran; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji terderivatisasi* dan *Larutan baku terderivatisasi*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah kaca atau plastik dosis tunggal atau ganda, sebaiknya dari kaca tipe I.

## SALEP MATA TOBRAMISIN Tobramycin Ophthalmic Ointment

Salep mata Tobramisin mengandung Tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Tobramisin BPFI;** tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin. Bersifat higroskopis.

**Identifikasi Kocok kuat** secara mekanik sejumlah salep mata setara dengan lebih kurang 3 mg tobramisin dengan 2 ml *kloroform P*. Tambahkan 1 ml air, kocok kuat secara mekanik selama 1 menit dan sentrifus selama 15 menit: lapisan atas jernih, lapisan air memenuhi *Identifikasi A* seperti tertera pada *Tobramisin*.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat, jika diuji seperti tertera pada *Penyaringan membran* dalam uji *Sterilitas*.

**Isi minimum <861>** Memenuhi syarat.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan menggunakan 20 ml campuran *toluen P-metanol P (7:3)* sebagai pengganti *metanol P* dalam labu titrasi.

**Partikel logam <1061>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Pereaksi 2,4-dinitrofluorobenzen, Pereaksi tris(hidroksimetil)aminometan, Larutan baku, Larutan resolusi, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tobramisin*.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah salep mata setara dengan lebih kurang 4,5 mg tobramisin, masukkan ke dalam corong pisah, tambahkan 50 ml *eter P* dan ekstraksi 4 kali, tiap kali dengan 20 hingga 25 ml air.

Kumpulkan ekstrak air dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur derivatisasi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tobramisin*, kecuali gunakan 15,0 ml *Larutan uji* sebagai pengganti 4,0 ml *Larutan uji*.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tobramisin*. Hitung jumlah dalam mg tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , dalam salep mata yang digunakan dengan rumus:

$$CE \left( \frac{4}{150} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tobramisin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *E* adalah kesetaraan tobramisin dari *Tobramisin BPFi* dalam  $\mu\text{g}$  per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji terderivatisasi* dan *Larutan baku terderivatisasi*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tube salep mata yang sesuai.

## TETES MATA TOBRAMISIN Tobramycin Ophthalmic Solution

Tetes Mata Tobramisin mengandung Tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Dapat mengandung satu atau lebih adjuvan, pendispersi, pengawet dan pengisotonis yang sesuai.

**Baku pembanding** *Tobramisin BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin. Bersifat higroskopis.

### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Tobramisin BPFi*, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 3 mg per ml.

*Larutan uji* Gunakan tetes mata tobramisin.

*Campuran larutan baku dan larutan uji* Buat campuran sejumlah volume sama *Larutan baku* dan *Larutan uji*.

*Prosedur* Totolkan masing-masing 6  $\mu\text{l}$  *Larutan uji*, *Larutan baku*, *campuran larutan baku dan larutan uji* pada lempeng kromatografi. Lakukan penetapan seperti uji A yang tertera pada *Identifikasi dalam Tobramisin*, dimulai dari "masuk ke dalam bejana kromatografi yang sesuai".

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji terderivatisasi* sesuai dengan *Larutan baku terderivatisasi* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat, jika diuji seperti tertera pada *Penyaringan membran dalam uji Sterilitas*.

**pH** <1071> Antara 7,0 dan 8,0.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak*, *Pereaksi 2,4-dinitrofluorobenzen*, *Pereaksi tris(hidroksi-metil)aminometan* dan *Larutan resolusi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tobramisin*.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 33 mg *Tobramisin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 20 ml air dan 1 ml *asam sulfat P 1 N* dan goyang hingga larut. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung *Tobramisin BPFi* lebih kurang 0,132 mg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume tetes mata setara dengan lebih kurang 6 mg tobramisin, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur derivatisasi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tobramisin*, kecuali gunakan masing-masing 5,0 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji*, sebagai pengganti masing-masing 4,0 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tobramisin*, kecuali gunakan kolom 15 cm x 4 mm dan pertahankan suhu kolom pada 40°.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tobramisin*. Hitung jumlah dalam mg tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , dalam tetes mata yang digunakan dengan rumus:

$$0,05 \left( \frac{CE}{V} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tobramisin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *E* adalah kesetaraan tobramisin dalam *Tobramisin BPFi* dalam  $\mu\text{g}$  per mg; *V* adalah volume tetes mata dalam ml yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji terderivatisasi* dan *Larutan baku terderivatisasi*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan hindarkan dari panas berlebihan.

## TOBRAMISIN UNTUK INJEKSI Tobramycin for Injection

Tobramisin untuk Injeksi mengandung Tobramisin Sulfat setara dengan Tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , tidak

kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 115,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Tobramisin BPFi**; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pendingin. Bersifat higroskopis. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Menunjukkan reaksi uji *Identifikasi* seperti tertera pada *Tobramisin*.

B. Menunjukkan reaksi *Sulfat* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji identifikasi umum* <291>.

**Larutan terkonstitusi** Memenuhi syarat *Larutan terkonstitusi* seperti tertera pada *Injeksi*, pada saat akan digunakan.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 2,00 unit Endotoksin FI per mg tobramisin.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat, jika diuji seperti tertera pada *Penyaringan membran* dalam uji *Sterilitas*. Gunakan 6 g jika tidak dikemas untuk pembuatan.

**pH** <1071> Antara 6,0 dan 8,0; lakukan penetapan menggunakan larutan 40 mg per ml (jika dikemas untuk pembuatan, dalam larutan terkonstitusi seperti tertera pada etiket).

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0%.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat *Sisa pemijaran* dan *Logam berat* seperti tertera pada *Tobramisin*. Memenuhi syarat *Keseragaman sediaan* <911> dan *Penandaan* seperti tertera pada *Injeksi*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak*, *Pereaksi 2,4-dinitrofluorobenzen*, *Pereaksi tris(hidroksimetil)aminometan*, *Larutan baku*, *Prosedur derivatisasi*, *Larutan resolusi* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tobramisin*.

*Larutan uji 1* (jika dinyatakan sebagai wadah dosis tunggal) Konstitusikan satu wadah tobramisin untuk injeksi dalam sejumlah volume air yang telah diukur saksama, sesuai dengan volume pengencer yang tertera pada etiket. Ke luaran dengan saksama semua volume larutan, menggunakan dengan jarum hipodermik, dan encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar tobramisin lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji 2* (jika pada etiket tertera jumlah tobramisin dalam volume larutan terkonstitusi) Konstitusikan satu wadah tobramisin untuk injeksi dalam sejumlah volume air yang telah diukur saksama, sesuai dengan volume pengencer yang tertera pada etiket. Ukur saksama sejumlah volume larutan terkonstitusi, dan encerkan secara kuantitatif dengan air hingga kadar tobramisin lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Tobramisin*. Hitung jumlah dalam mg tobramisin,  $C_{18}H_{37}N_5O_9$ , dalam larutan yang dikeluarkan dari wadah atau dalam larutan terkonstitusi yang digunakan dengan rumus:

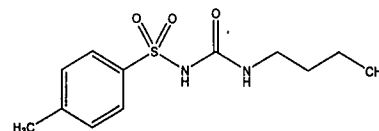
$$\left(\frac{L}{D}\right)\left(\frac{CE}{1000}\right)\left(\frac{r_U}{r_S}\right)$$

*L* adalah jumlah tobramisin yang tertera pada etiket, dalam mg atau dalam volume larutan terkonstitusi yang digunakan; *D* adalah kadar tobramisin dalam mg per ml *Larutan uji 1* atau *Larutan uji 2* berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket, atau volume larutan terkonstitusi yang digunakan dan pengenceran yang dilakukan; *C* adalah kadar *Tobramisin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *E* adalah kesetaraan tobramisin dalam *Tobramisin BPFi* dalam  $\mu\text{g}$  per mg;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji terderivatisasi* dan *Larutan baku terderivatisasi*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah untuk padatan steril seperti tertera pada *Injeksi*.

## TOLBUTAMID

### Tolbutamide



*1-Butil-3-(p-tolilsulfonil)urea* [64-77-7]

$C_{12}H_{18}N_2O_3S$

BM 270,35

Tolbutamid mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{12}H_{18}N_2O_3S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih, atau praktis putih; rasa agak pahit dan praktis tidak berbau.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam kloroform.

**Baku pembanding Tolbutamid BPFi**; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Endotoksin BPFi* [Catatan Bersifat pirogenik,

penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan dalam lemari pendingin.

**Identifikasi Spektrum serapan inframerah** zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tolbutamid BPFi*.

**Jarak lebur <1021>** Antara 126° dan 130°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Selenium <391>** Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan menggunakan 100 mg zat, campur dengan 100 mg *magnesium oksida P*.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Urea non-sulfonil** Larutkan 500 mg zat dalam 10 ml *amonium hidroksida 0,5 N*; kekeruhan tidak lebih dari opalesens lemah.

**Syarat lain** Jika pada etiket tertera *tolbutamid steril*, maka memenuhi syarat uji *Sterilitas <71>* dan *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Injeksi Tolbutamid*. Jika pada etiket tertera bahwa *tolbutamid* perlu diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, maka harus memenuhi syarat *Endotoksin bakteri <201>* seperti tertera pada *Injeksi Tolbutamid*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran *heksan P-air jenuh heksan-tetrahidrofuram P-etanol P-asam asetat glasial P (475:475:20:15:9)*, saring dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku internal** Larutkan sejumlah *tolazamida*, dalam *kloroform bebas etanol P* hingga kadar lebih kurang 3 mg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Tolbutamid BPFi*, larutkan dalam *Larutan baku internal*, hingga kadar lebih kurang 1,5 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 15 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan baku internal* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L3*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur: resolusi, R*, antara *tolbutamid* dan *tolazamida* tidak kurang dari 2,0 dan

simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif *tolbutamid* dan *tolazamida* berturut-turut lebih kurang 0,6 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg *tolbutamid*,  $C_{12}H_{18}N_2O_3S$  dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$10C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tolbutamid BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $R_U$  dan  $R_S$  berturut-turut adalah perbandingan respons puncak *tolbutamid* terhadap *tolazamida* dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**Penandaan** Jika digunakan untuk pembuatan sediaan injeksi, pada etiket harus dinyatakan steril atau memerlukan proses lebih lanjut.

## TABLET TOLBUTAMID Tolbutamide Tablet

Tablet *Tolbutamid* mengandung *tolbutamid*,  $C_{12}H_{18}N_2O_3S$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tolbutamid BPFi*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Identifikasi** Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 500 mg *tolbutamid*, gerus dengan 50 ml *kloroform P* dan saring. Uapkan filtrat pada tangas uap hingga kering; spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tolbutamid BPFi*.

**Disolusi <1231>**

**Media disolusi** : 900 ml *Dapar fosfat pH 7,4* seperti tertera pada *Larutan dapar* dalam *Pereaksi, Indikator dan Larutan*.

**Alat tipe 2** : 75 rpm.

**Waktu** : 30 menit.

**Prosedur** Lakukan penetapan jumlah  $C_{12}H_{18}N_2O_3S$ , yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan air dan serapan larutan baku *Tolbutamid BPFi* dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 226 nm. Jumlah *etanol P* yang digunakan untuk melarutkan *Tolbutamid BPFi* sebelum diencerkan dengan *Media*

*disolusi* tidak lebih dari 1% dari jumlah total volume larutan baku.

*Toleransi* Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 70% (Q)  $C_{12}H_{18}N_2O_3S$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku internal, Larutan baku dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar dalam Tolbutamid*.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 10 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 150 mg tolbutamid, masukkan dalam wadah yang sesuai. Tambahkan 100,0 ml *Larutan baku internal* dan lebih kurang 20 butiran kaca. Tutup wadah dengan rapat dan kocok kuat secara mekanik selama lebih kurang 30 menit. Sentrifus dan gunakan beningan.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera *Prosedur* pada *Penetapan kadar dalam Tolbutamid*. Hitung jumlah dalam mg tolbutamid,  $C_{12}H_{18}N_2O_3S$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tolbutamid BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak tolbutamid terhadap tolazamida dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TRAGAKAN Tragacanth

*Gom tragakan* [9000-65-1]

Tragakan adalah eksudat kering gom dari *Astragalus gummifer* Labillardiere atau spesies Asiatic lain dari *Astragalus* (Familia *Leguminosae*).

**Pemerian** Tidak berbau; tawar; seperti lendir.

### Karakteristik botani

*Tragakan* Fragmen, datar, lamela, kadang-kadang melengkung atau helaian lurus atau spiral melengkung dengan ketebalan dari 0,5 mm sampai 2,5 mm; warna putih hingga kuning muda, bening dan susunannya bertonjolan, patahannya pendek. Lebih mudah diserbukkan apabila dipanaskan pada suhu hingga 50°: tidak berbau, rasa tawar seperti lendir.

*Jaringan* Helaian tragakan menjadi lunak dalam air dan menjadi lengket dalam air atau *gliserin P*, terbentuk banyak lamela dan sedikit butiran-butiran tepung.

*Serbuk tragakan* Putih hingga putih kekuningan. Bila diamati di dalam tetesan air, menunjukkan sejumlah fragmen angular dari musilago dengan lamela melingkar atau tidak beraturan, kadang-kadang butiran tepung berdiameter sampai 25 µm sebagian besar sederhana, sferis hingga elip, kadang-kadang berkumpul 2 butir sampai 4 butir, beberapa butir mengembang dan beberapa diantaranya berubah. Serbuk menunjukkan beberapa atau tidak ada fragmen jaringan tanaman berlignin (*Gom India*).

**Identifikasi** Tambahkan 1 g zat ke dalam 50 ml air: akan mengembang dan terbentuk musilago yang halus, hampir serba sama, kental dan tembus cahaya, bebas dari fragmen-fragmen sel.

**Batas mikroba** <51> Tidak boleh mengandung *Salmonella sp* dan *Escherichia coli*.

**Arsen** <321> *Metode II* Tidak lebih dari 3 bpj.

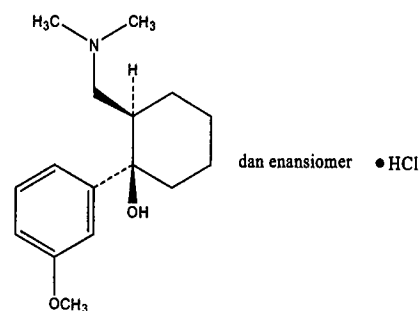
**Timbal** <401> Tidak lebih dari 10 bpj.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 40 bpj.

**Gom karaya** Didihkan 1 g zat dengan 20 ml air hingga terbentuk musilago, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan didihkan kembali campuran selama 5 menit: tidak terjadi warna merah muda atau merah.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## TRAMADOL HIDROKLORIDA Tramadol Hydrochloride



(±)-*cis*-2-[(dimetilamino)metil]-1-(3-metoksifenil) sikloheksanol hidroklorida [36282-47-0]

$C_{16}H_{25}NO_2.HCl$

BM 299,84

Tramadol Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{16}H_{25}NO_2.HCl$  dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk kristal; putih.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air dan dalam metanol; sangat tidak larut dalam aseton.

**Baku pembanding** *Tramadol Hidroklorida BPFi*, *Senyawa sejenis A Tramadol BPFi*, *Senyawa sejenis B Tramadol BPFi*.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kaliun bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tramadol Hidroklorida BPFi*.

B. Larutan dalam air (1:100) menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji identifikasi umum <291>*.

**Keasaman** Larutkan 500 mg zat dalam air dan encerkan hingga 10 ml. Tambahkan 0,2 ml *merah metil LP* dan 0,2 ml *asam klorida 0,01 N LV* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,01 N LV*; diperlukan tidak lebih dari 0,4 ml *natrium hidroksida 0,01 N* untuk membentuk warna kuning.

**Air <1031> Metode Ia** Tidak lebih dari 0,5%.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371> Metode I** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Klorida** Tidak kurang dari 11,6% dan tidak lebih dari 12,1%; timbang saksama 150 mg zat, larutkan dalam 40 ml air, tambahkan dengan pengadukan 7,5 ml *asam nitrat 4 N* dan 15,0 ml *perak nitrat 0,1 N* dan titrasi dengan *amonium tiosianat 0,1 N LV*, tentukan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan sistem elektroda kaca-perak.

*Tiap ml amonium tiosianat 0,1 N setara dengan 3,545 mg klorida.*

**2-(dimetilaminometil)-1-sikloheksanon hidroklorida** Tidak lebih dari 0,1%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *toluen P-isopropil-alkohol P-amoniam P 25%* dalam air (80:19:1).

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah 2-(dimetilaminometil)-1-sikloheksanon hidroklorida BPFi, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan natrium nitrit* Timbang saksama lebih kurang 2,5 g *natrium nitrit P*, larutkan dalam 50 ml air.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing lebih kurang 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm.

Masukkan lempeng dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan merambat sampai 10 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat, semprot dengan *Dragendorff LP*, dan keringkan di udara selama 5 menit. Semprot lempeng yang telah kering dengan *Larutan natrium nitrit* sampai terlihat bercak 2 (dimetilaminometil)-1-siklo heksanon hidroklorida dari *Larutan baku*. Bercak lain pada kromatogram *Larutan uji* yang sesuai dengan 2 (dimetilaminometil)-1-siklo heksanon hidroklorida, tidak lebih intensif dari bercak pada kromatogram *Larutan baku*.

**Senyawa sejenis** Senyawa sejenis A tramadol tidak lebih dari 0,2%; Masing-masing cemaran selain senyawa sejenis A tramadol tidak lebih dari 0,1% dan total cemaran tidak lebih dari 0,4%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dan  $r_s$  adalah jumlah semua respons puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan asam trifluoroasetat* Larutkan 0,5 ml *asam trifluoroasetat P* dalam 1000 ml air.

*Fase gerak* Buat campuran *Larutan asam trifluoroasetat P-asetonitril P (700:300)*. Saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah *Tramadol Hidroklorida BPFi* dan *Senyawa Sejenis A Tramadol Hidroklorida BPFi* dalam *Fase gerak* hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,05 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tramadol Hidroklorida BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 150 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 270 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi *L1*, dengan ukuran partikel

5 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis A tramadol dan tramadol berturut-turut lebih kurang 0,9 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis A tramadol dan tramadol tidak kurang dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

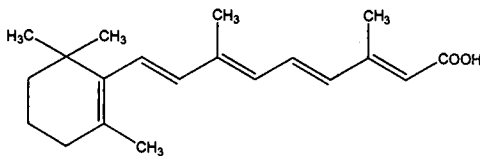
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tramadol hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>2</sub>.HCl, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tramadol hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan simpan pada suhu ruang terkendali.

**TRETINOIN**  
**Asam Retinoat**  
**Tretinoin**



*Trans-asam retinoat* [302-79-4]  
C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub> BM 300,44

Tretinoin mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, kuning sampai jingga terang.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; sedikit larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam metanol.

**Baku pembanding** *Isotretinoin BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan vial pada suhu di bawah 0°, biarkan mencapai suhu ruang sebelum dibuka dan gunakan isi segera setelah wadah dibuka. Pada vial yang telah dibuka, lindungi dari udara dan cahaya. *Tretinoin BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam lemari pendingin, terlindung cahaya, biarkan mencapai suhu ruang sebelum dibuka dan gunakan isi segera setelah wadah dibuka. [Catatan Hindari kontak

dengan cahaya kuat dan gunakan alat kaca aktinik rendah pada pelaksanaan prosedur berikut ini.]

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tretinoin BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 4 µg per ml dalam *isopropil alkohol P* yang diasamkan, yang dibuat dengan mengencerkan 1 ml *asam klorida 0,01 N* dengan *isopropil alkohol P* hingga 1000 ml, menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada larutan *Tretinoin BPFi*; serapan masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 352 nm: berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu ruang selama 16 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Isotretinoin** Tidak lebih dari 5,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran *isooktan P-isopropil alkohol P-asam asetat glasial P* (99,65:0,25:0,1) saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan kesesuaian sistem 1* Timbang saksama sejumlah *Tretinoin BPFi*, larutkan dalam sedikit *metilen klorida P*, tambahkan sejumlah *isooktan P* hingga kadar lebih kurang 250 µg per ml.

*Larutan baku 1* Timbang saksama sejumlah *Isotretinoin BPFi*, larutkan dengan sedikit *metilen klorida P*, tambahkan *isooktan P* hingga kadar lebih kurang 250 µg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem 2* Pipet 5 ml *Larutan baku 1* ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *Larutan kesesuaian sistem 1* sampai tanda.

*Larutan baku 2* Pipet 5 ml *Larutan baku 1* ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *isooktan P* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam sedikit *metilen klorida P*, tambahkan *isooktan P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 352 nm dan kolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L3*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem 2*, rekam kromatogram dan ukur

respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif isotretinoin dan tretinoin masing-masing lebih kurang 0,84 dan 1,00; resolusi, *R*, antara isotretinoin dan tretinoin tidak kurang dari 2,0 dan simpangan baku relatif respons puncak isotretinoin pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku 2* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase isotretinoin dalam zat dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Isotretinoin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku 2*; *W* adalah bobot zat dalam mg yang digunakan untuk membuat *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak isotretinoin dari *Larutan uji* dan *Larutan baku 2*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 240 mg zat, larutkan dalam 50 ml *dimetilformamida P*, tambahkan 3 tetes larutan *biru timol P* dalam *dimetilformamida P* (1 dalam 100), titrasi dengan *natrium metoksida 0,1 N LV* hingga warna kehijauan. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium metoksida 0,1 N setara dengan 30,04 mg C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, lebih baik di dalam gas inert, terlindung cahaya.

## GEL TRETINOIN Tretinoin Gel

Gel Tretinoin mengandung Tretinoin, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 130,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tretinoin BPFi*; Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan, simpan dalam lemari pembeku, terlindung cahaya. Biarkan wadah pada suhu ruang sebelum dibuka, gunakan isi wadah segera setelah dibuka.

**Identifikasi** Spektrum serapan yang diperoleh antara panjang gelombang 300 nm dan 450 nm dari *Larutan uji* pada *Penetapan kadar* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tretinoin BPFi*.

**Isi minimum** <861> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** [Catatan Hindari paparan cahaya kuat dan gunakan peralatan kaca aktinik rendah.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tretinoin BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif, jika perlu secara bertahap dengan *kloroform P* hingga kadar lebih kurang 3,75 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah gel setara dengan lebih kurang 375 µg tretinoin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam lebih kurang 70 ml *kloroform P*, encerkan dengan *kloroform P* sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 365 nm dalam sel 1-cm, menggunakan *kloroform P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam µg tretinoin, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>, dalam gel yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tretinoin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

## KRIM TRETINOIN Tretinoin Cream

Krim Tretinoin mengandung Tretinoin, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Tretinoin BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam lemari pembeku, terlindung cahaya. Biarkan wadah pada suhu ruang sebelum dibuka, gunakan isi wadah segera setelah dibuka.

**Identifikasi** Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Isi minimum** <861> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. [Catatan Hindari paparan cahaya kuat dan gunakan peralatan kaca aktinik rendah. Gunakan penstabil tetrahidrofurannya dalam penyiapan *Larutan baku* dan *Larutan uji*.]

*Asam fosfat encer* Encerkan 10 ml *asam fosfat P* dengan air hingga 100 ml.

*Dapar fosfat* Larutkan 1,38 mg *natrium fosfat monobasa P* dalam 1000 ml air, atur pH hingga 3,0 dengan penambahan *Asam fosfat encer*. Saring dan awadaurakan.

*Pengencer* Buat campuran air-*Asam fosfat encer* (9:1).



*Fase gerak* [Catatan Dapar fosfat dan tetrahidrofuran disaring dan diawadarakan secara terpisah sebelum dicampur.] Buat campuran Dapar fosfat-tetrahidrofuran P (58:42). Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tretinoin BPFi*, larutkan dalam *tetrahidrofuran P* hingga kadar lebih kurang 0,4 mg per ml. Pipet sejumlah volume larutan, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan campuran *tetrahidrofuran P-Pengencer* (3:2) hingga kadar lebih kurang 4 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah krim setara dengan lebih kurang 1,0 mg tretinoin, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 20,0 ml *tetrahidrofuran P*. Kocok labu, encerkan dengan *tetrahidrofuran P* sampai tanda, saring. Pipet 5 ml filtrat ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan campuran *tetrahidrofuran P-Pengencer* (3:2) sampai tanda, campur dan saring.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 365 nm dan kolom 15 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi L1 dengan ukuran partikel 4 µm. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

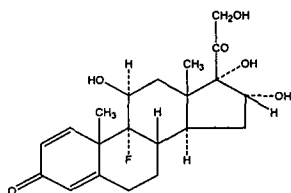
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tretinoin, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>, dalam krim yang digunakan dengan rumus:

$$250C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Tretinoin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam tube yang dapat dilipat atau wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

## TRIAMSinOLON Triamcinolone



9-Fluoro-11β,16α,17,21-tetrahidroksipregna-1,4-diena-3,20-dion [124-94-7]

C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>FO<sub>6</sub>

BM 394,43

Triamsinolon mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>FO<sub>6</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau praktis putih; tidak berbau.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air, dalam kloroform dan dalam eter; sukar larut dalam etanol dan dalam metanol.

**Baku pembanding** *Triamsinolon BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat. Bahan ini bersifat higroskopis.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kaliun bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Triamsinolon BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20 µg per ml dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Triamsinolon BPFi*; serapan masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 238 nm, berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +65° dan +72°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan 2 mg per ml dalam *dimetilformamida P*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,5%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 25 bpj.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran air-metanol P (lebih kurang 40:60), awadarakan sehingga waktu retensi triamsinolon dan hidrokortison berturut-turut lebih kurang 5 menit dan 10 menit.

*Larutan baku internal* Timbang saksama sejumlah *hidrokortison P*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,3 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Triamsinolon BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam *Larutan baku internal*, encerkan dengan pelarut yang sama sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat; lakukan seperti tertera pada *Larutan baku*.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara triamsinolon dan hidrokortison tidak kurang dari 3,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

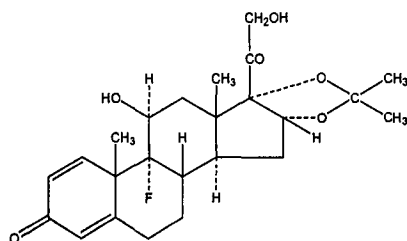
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg triamsinolon, C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>FO<sub>6</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$50C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Triamsinolon BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak triamsinolon terhadap hidrokortison dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

### TRIAM SINOLON ASETONIDA Triamcinolone Acetonide



*9-Fluoro-11β,16α,17,21-tetrahidroksipregna-1,4-dien-3,20-dion siklik 16,17-asetat dengan aseton* [76-25-5]  
C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>FO<sub>6</sub> BM 434,51

Triamsinolon Asetonida mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>FO<sub>6</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih sampai krim; berbau sangat lemah.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol mutlak, dalam kloroform dan metanol.

**Baku pembanding** *Triamsinolon Asetonida BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Untuk analisis kuantitatif tetapkan kadar air secara titrimetri. Simpan dalam wadah tertutup rapat. *Fluoksimesteron BPFi*; lakukan pengeringan pada

suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dihablurkan kembali dari *metanol P* dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Triamsinolon Asetonida BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 20 µg per ml dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Triamsinolon Asetonida BPFi*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +118° dan +130°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan menggunakan larutan 5 mg per ml dalam *dimetilformamida P*.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 25 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: Masukkan 1,0 g zat dalam krus, pijarkan hati-hati dalam tanur pada suhu lebih kurang 550° hingga mengarang. Dinginkan, tambahkan 5 tetes *asam sulfat P* dan 2 ml *asam nitrat P*, panaskan hati-hati hingga reaksi selesai, kemudian pijarkan dalam tanur pada suhu 500° sampai 600° hingga semua arang terbakar sempurna. Dinginkan, tambahkan 2-ml *asam klorida P* dan uapkan perlahan-lahan di atas uap hingga kering. Basahi residu dengan 1 tetes *asam klorida P* dan 5 ml air panas dan digesti selama 2 menit. Tambahkan 1 tetes *fenolfitalein LP*, kemudian tambahkan *amonium hidroksida 6 N* tetes demi tetes hingga bereaksi basa. Asamkan larutan dengan *asam asetat 1 N*, tambahkan 1 ml berlebih, pindahkan ke dalam gelas piala dan tambahkan air hingga 10 ml. Pipet 2,5 ml (setara dengan 25 µg Pb) *Larutan baku timbal* seperti tertera pada *Uji Batas Timbal* <401> ke dalam gelas piala kedua, tambahkan 3 ml air dan 1 tetes *fenolfitalein LP*, basakan larutan dengan *amonium hidroksida 6 N*, kemudian asamkan dengan *asam asetat 1 N*, dan tambahkan 1 ml berlebih. Encerkan dengan air hingga 10 ml. Pada tiap gelas piala tambahkan 5 ml *hidrogen sulfida LP* segar, campur dan biarkan selama 5 menit. Saring tiap larutan secara terpisah melalui penyaring membran datar tahan asam berwarna putih dengan porositas 0,22 µm dan diameter 25 mm, kumpulkan endapan pada cakram penyaring; warna endapan dari larutan uji tidak lebih gelap dari larutan pembanding.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,3% dan total cemaran tidak lebih dari 0,8%.

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril *P* (17:8). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian

menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan uji* Timbang saksama 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam 25 ml *metanol P*, kocok kuat, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 3,9 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan uji* dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara triamsinolon asetonida dan puncak cemaran tidak kurang dari 1,0.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 20 µl *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram selama tidak kurang dari empat kali waktu retensi triamsinolon asetonida dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$50C \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran; *r<sub>s</sub>* adalah jumlah semua respons puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran air-asetonitril *P* (70:30) dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku internal* Timbang sejumlah *Fluoksimesteron BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 50 µg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Triamsinolon Asetonida BPF1*, larutkan dalam *Larutan baku internal* hingga kadar lebih kurang 75 µg per ml. Campur sejumlah volume sama larutan dan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 37,5 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 37 mg zat; lakukan seperti tertera pada *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1*. Atur laju alir hingga waktu retensi triamsinolon asetonida lebih kurang 14,5 menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara triamsinolon asetonida dan fluoksimesteron tidak kurang dari 2,0 dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (15 µl sampai 25 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

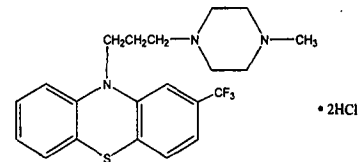
respons puncak baku internal dan triamsinolon asetonida. Hitung jumlah dalam mg triamsinolon asetonida, C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>FO<sub>6</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Triamsinolon Asetonida BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak triamsinolon asetonida terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik. Simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan antara 15° dan 30°.

### TRIFLUOPERAZIN HIDROKLORIDA Trifluoperazine Hydrochloride



10-[3-(4-Metil-1-piperazinil)propil]-2-(trifluorometil)fenotiazin dihidroklorida [440-17-5]  
C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>S.2HCl BM 480,42

Trifluoperazin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>S.2HCl dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih sampai kuning pucat; praktis tidak berbau; rasa pahit; melebur pada suhu lebih kurang 242° disertai peruraian.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; larut dalam etanol; agak sukar larut dalam kloroform; tidak larut dalam eter dan dalam benzen.

**Baku pembanding** *Trifluoperazin Hidroklorida BPF1*; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam sebelum digunakan.

[Catatan Lakukan seluruh prosedur pengujian terhadap zat atau baku pembanding tanpa penundaan, lindungi terhadap cahaya langsung atau gunakan alat kaca aktinik rendah.]

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan

gelombang yang sama seperti pada *Trifluoperazin Hidroklorida BPF1*.

B. Spektrum serapan ultraviolet dari larutan 10 µg per ml dalam *asam klorida 0,1 N* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 255 nm, berbeda tidak lebih dari 2,0%.

C. Larutan (1 dalam 100) menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

D. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <281>*.

*Fase gerak* Buat campuran *aseton P-amonium hidroksida P* (200:1).

*Penampak bercak* Larutkan 100 mg *asam kloroplatinat P* dalam 1 ml *asam klorida 1 N*, dan tambahkan 25 ml larutan *kalium iodida P* (1 dalam 25), encerkan dengan air hingga 100 ml, kemudian tambahkan 0,5 ml *asam format P*.

*Larutan baku* Timbang sejumlah *Trifluoperazin Hidroklorida BPF1* larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 1,2 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang sejumlah zat larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 1,2 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 nm. Biarkan bercak kering, dan masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan fase gerak menguap. Semprot lempeng dengan *Penampak bercak*: harga  $R_f$  bercak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan dari *Larutan baku*.

**pH <1071>** Antara 1,7 dan 2,6; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 1,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 60° selama 4 jam.

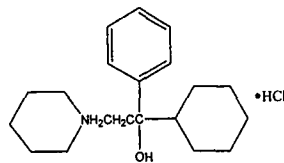
**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat yang telah dikeringkan, larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P* dan tambahkan *kristal violet LP* dan 15 ml *raksa(II) asetat LP*. Titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga titik akhir hijau-biru. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 24,02 mg  $C_{21}H_{24}F_3N_3S \cdot 2HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan antara 15° dan 30°.

## TRIEKSIFENIDIL HIDROKLORIDA Trihexiphenidyl Hydrochloride



(±)- $\alpha$ -Sikloheksil- $\alpha$ -fenil-1-piperidinpropanol  
hidroklorida [52-49-3]  
 $C_{20}H_{31}NO \cdot HCl$

BM 337,93

Triheksifenidil Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{20}H_{31}NO \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur putih atau hampir putih; bau lemah; melebur pada suhu lebih kurang 250°.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Triheksifenidil Hidroklorida BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Triheksifenidil Hidroklorida BPF1*.

B. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara *A*, *B* dan *C* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

C. Waktu retensi triheksifenidil hidroklorida kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat <371>** *Metode III* Tidak lebih dari 20 bpj.

**Klorida** Tidak kurang dari 10,3% dan tidak lebih dari 10,7% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 1,2 g zat, larutkan dalam campuran 50 ml *metanol P*, 5 ml *asam asetat glasial P* dan 5 ml air. Tambahkan 3 tetes kuning *eosin Y LP*. Aduk dengan pengaduk magnetik dan titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV* hingga suspensi berwarna jingga kekuningan yang terjadi selama titrasi berubah dengan tajam menjadi merah.

Tiap ml *perak nitrat 0,1 N*  
setara dengan 3,545 mg *Cl*

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran heksan *P-isopropilamin P* (98:2).

*Penampak bercak* Larutkan 800 mg *bismut subnitrat P* dalam campuran 40 ml air dan 10 ml *asam asetat glasial P* (larutan A). Larutkan 8 g *kalium iodida P* dalam 20 ml air (larutan B). Campur sejumlah volume sama larutan A dan larutan B.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Triheksifenidil Hidroklorida BPFI*, larutkan dalam campuran *kloroform P-isopropilamin P* (98:2) hingga kadar lebih kurang 2,5 mg per ml. Encerkan secara kuantitatif larutan dengan campuran *kloroform P-isopropilamin P* (98:2) hingga kadar lebih kurang 500 µg per ml (*Larutan baku A*) dan 250 µg per ml (*Larutan baku B*).

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat larutkan dalam campuran *kloroform P-isopropilamin P* (98:2) hingga kadar lebih kurang 50 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku A* dan *Larutan baku B* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah berisi dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan *Fase gerak* menguap dan semprot lempeng dengan *Penampak bercak* kemudian dengan larutan *natrium nitrit P* (4 dalam 100). Bandingkan intensitas bercak lain kromatogram *Larutan uji* dengan bercak utama *Larutan baku*. Tidak ada bercak sekunder kromatogram *Larutan uji* yang lebih besar atau lebih intensif dari bercak utama *Larutan baku B* (0,5%) dan jumlah intensitas seluruh bercak selain bercak utama dari *Larutan uji* tidak lebih dari 1,0%.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Buat campuran *asetonitril P-air-trietilamin P* (920:80:0,2), atur pH hingga 4,0 dengan penambahan *asam fosfat P*, saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Triheksifenidil BPFI* larutkan dalam *asetonitril P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *asetonitril P* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 20 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *asetonitril P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 210 nm dan kolom 8 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 3 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan

kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 1300 lempeng teoritis: faktor ikutan tidak lebih dari 3,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0 %.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg triheksifenidil hidroklorida,  $C_{20}H_{31}NO.HCl$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Triheksifenidil Hidroklorida BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

### TABLET TRIHEKSIFENIDIL HIDROKLORIDA Trihexiphenidyl Hydrochloride Tablet

Tablet *Triheksifenidil Hidroklorida* mengandung *Triheksifenidil Hidroklorida*,  $C_{20}H_{31}NO.HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Triheksifenidil Hidroklorida BPFI*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

#### Identifikasi

A. Gerus sejumlah tablet setara dengan 20 mg *triheksifenidil hidroklorida* hingga halus kemudian gerus dengan 25 ml *kloroform P*. Saring dan uapkan filtrat dengan pemanasan sedang hingga lebih kurang 10 ml. Pindahkan larutan ke dalam 100 ml *n-heksan P*: terbentuk endapan putih. Diamkan campuran selama 30 menit, saring endapan melalui penyaring membran dengan porositas 1 µm. Cuci hablur dengan sedikit *n-heksan P*, biarkan kering di udara: serapan spektrum inframerah hablur yang didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Triheksifenidil Hidroklorida BPFI*.

B. Endapan yang diperoleh dari *Identifikasi A* menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

C. Waktu retensi relatif *triheksifenidil hidroklorida* kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Disolusi <1231>**

*Media disolusi:* 900 ml; dapar asetat pH 4,50±0,05 dibuat dengan mencampurkan 2,99 g natrium asetat trihidrat P dan 1,66 ml asam asetat glasial P, dengan air hingga 1000 ml.

*Alat tipe 1:* 100 rpm.

*Waktu:* 45 menit.

*Larutan hijau bromokresol* Larutkan 250 mg hijau bromokresol P dalam campuran 15 ml air dan 5 ml natrium hidroksida 0,1 N, encerkan dengan *Media disolusi* hingga 500 ml, campur. Ekstraksi 250 ml larutan dua kali, tiap kali dengan 100 ml kloroform P, buang ekstrak kloroform.

**Prosedur**

*Larutan uji* Pipet sejumlah alikuot setara dengan lebih kurang 50 µg triheksifenidil hidroklorida, masukkan ke dalam tabung sentrifuga 50 ml.

*Larutan baku* Ukur sejumlah volume sama larutan baku *Triheksifenidil Hidroklorida BPFi* yang diketahui kadarnya dalam *Media disolusi* ke dalam tabung sentrifuga 50 ml. Masukkan sejumlah volume sama *Media disolusi* ke dalam tabung sentrifuga 50 ml ketiga sebagai blangko. Tambahkan 5 ml hijau bromokresol LP dan 10,0 ml kloroform P ke masing-masing tabung, sumbat tabung, kocok kuat tidak kurang dari 20 detik. Sentrifus, pisahkan campuran, dan buang lapisan bagian atas. Saring masing-masing lapisan kloroform melalui kertas saring. Lakukan penetapan jumlah C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>NO.HCl yang terlarut dengan mengukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 415 nm. Blangko digunakan untuk men-set alat (membuat nol). Hitung jumlah C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>NO.HCl yang terlarut.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q), C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>NO.HCl, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Triheksifenidil Hidroklorida*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Triheksifenidil BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji* Masukkan 20 tablet ke dalam labu tentukur yang sesuai (hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml). Tambahkan sejumlah volume *asam klorida 0,1 N* hingga 10% dari volume labu tentukur, sonikasi dan kadang-kadang dikocok hingga tablet hancur. Tambahkan sejumlah volume *Fase gerak* setara dengan lebih kurang setengah volume labu tentukur, sonikasi sambil dikocok sering selama 10 menit dan kocok dengan pengaduk mekanik selama 10 menit. Dinginkan,

encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, campur dan saring.

*Prosedur* Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* pada *Penetapan kadar* dalam *Triheksifenidil Hidroklorida*. Hitung jumlah dalam mg triheksifenidil hidroklorida, C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>NO.HCl, dalam tiap tablet dengan rumus:

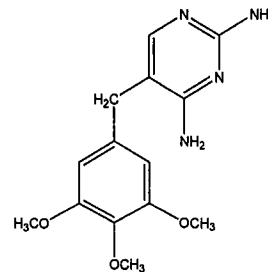
$$\left(\frac{VC}{20}\right)\left(\frac{r_u}{r_s}\right)$$

*V* adalah volume *Larutan uji* dalam ml; *C* adalah kadar *Triheksifenidil Hidroklorida BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>u</sub>* dan *r<sub>s</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

**TRIMETOPRIM**

**Trimethoprim**



2,4-Diamino-5-(3,4,5-trimetoksibenzil) pirimidina  
[738-70-5]

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

BM 290,32

Trimetoprim mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur, putih sampai krim; tidak berbau.

**Kelarutan** Larut dalam benzil alkohol; agak sukar larut dalam kloroform dan dalam metanol; sangat sukar larut dalam air, dalam etanol dan dalam aseton; praktis tidak larut dalam eter dan dalam karbon tetraklorida.

**Baku pembanding** *Trimetoprim BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah larutan dalam *kloroform P* (1 dalam 100) menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Trimetoprim BPFi*.

B. Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml kemudian

larutkan dalam 25 ml *etanol P*. Encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 250) hingga diperoleh larutan (1 dalam 50.000); spektrum serapan ultraviolet menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Trimetoprim BPFI*; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 287 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%.

**Jarak lebur** <1021> Antara 199° dan 203°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,1% dan total cemaran tidak lebih dari 0,2%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Dapar* Buat larutan *natrium perklorat 10 M*, atur pH 3,6 dengan penambahan *asam fosfat P*.

*Fase gerak* Buat campuran *dapar-metanol P* (7:3), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan resolusi* Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPFI* dan *diaveridin*, larutkan dalam *Fase gerak*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap, hingga kadar berturut-turut lebih kurang 10 µg dan 5 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,3 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara trimetoprim dan *diaveridin* tidak kurang dari 2,5; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan lebih kurang 20 µl *Larutan uji* ke dalam kromatograf, biarkan *Larutan uji* tereluasi selama tidak kurang dari 11 kali waktu retensi trimetoprim, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam trimetoprim yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{Fr_i}{\sum (Fr_i) + Fr_u} \right)$$

*F* adalah faktor respons relatif, yang bernilai 0,5 untuk puncak-puncak dengan waktu retensi relatif 0,9; 2,3; 2,7; atau 10,3 dan 1,0 untuk puncak-puncak yang lain; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak masing-masing cemaran; dan *r<sub>u</sub>* respons puncak utama trimetoprim dalam *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer, tambahkan 60 ml *asam asetat glasial P*; titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 29,03 mg  $C_{14}H_{18}N_4O_3$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### TABLET TRIMETOPRIM Trimethoprim Tablet

Tablet Trimetoprim mengandung Trimetoprim,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** *Trimetoprim BPFI*; Tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Buat campuran *kloroform P-metanol P-amonium hidroksida P* (95:7,5:1).

*Larutan baku* Larutkan sejumlah *Trimetoprim BPFI* dalam campuran *metanol P-kloroform P* (1:1) hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Larutan uji* Gerus sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg trimetoprim, dengan 2,5 ml *metanol P*. Tambahkan 2,5 ml *kloroform P*, gerus kembali dan sentrifus. Gunakan beningan.

*Prosedur* Totolkan masing-masing 25 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang tidak dijenuhkan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga 15 cm dari titik penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan *Fase gerak* menguap. Amati lempeng di bawah cahaya UV 254 nm: harga *R<sub>f</sub>* bercak utama dari *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

**Disolusi** <1231>

*Media disolusi*: 900 ml *asam klorida 0,01 N*.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , yang terlarut dengan mengukur serapan filtrat alikuot, yang jika perlu diencerkan dengan *asam klorida 0,01 N* hingga kadar lebih kurang 20 µg per ml, dan serapan

larutan baku *Trimetoprim BPF1* dalam media yang sama pada serapan maksimum lebih kurang 271 nm.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q)  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak* Buat campuran larutan *asam asetat glasial* 1% dalam air (v/v) dan *asetonitril P* (21:4). Saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Trimetoprim BPF1*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 100 mg trimetoprim, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 50 ml *metanol P*, sonikasi selama 5 menit, dengan goyang sesekali. Encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Sentrifus, pipet 10 ml beningan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 25 cm x 4,2 mm yang berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* sebanyak lima kali penyuntikan, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg trimetoprim,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$500C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Trimetoprim BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TRIPLEENAMIN HIDROKLORIDA

### Tripelenamin Hydrochloride

2-[Benzil[2-(dimetilamino)etil]amino]piridin monohidroklorida [154-69-8]

$C_{16}H_{21}N_3.HCl$

BM 291,82

Tripelenamin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{16}H_{21}N_3.HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih. Secara perlahan menjadi gelap pada pemaparan cahaya. Larutan praktis netral terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air, dalam etanol dan dalam kloroform; sukar larut dalam aseton; tidak larut dalam benzen, dalam eter dan dalam etil asetat.

**Baku pembanding** *Tripelenamin Hidroklorida BPF1*; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Memenuhi syarat *Identifikasi Basa Nitrogen Organik* <261>.

B. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Jarak lebur** <1021> Antara 188° dan 192°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 105° selama 3 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,1% dan total cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan pasangan ion*, *Fase gerak*, *Larutan benzaldehid*, *Larutan kesesuaian sistem*, *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Untuk mengevaluasi persyaratan kesesuaian sistem, gunakan *Larutan kesesuaian sistem* dan *Larutan baku*, seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran; dan  $r_s$  adalah jumlah semua respons puncak.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.



*Larutan pasangan ion* Buat larutan natrium 1-oktansulfonat 0,029 M.

*Fase gerak* Masukkan 530 ml metanol P ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 1,0 ml N,N-dimetiloktilamin P, dan campur. Tambahkan 430 ml Larutan pasangan ion, campur, atur pH hingga 3,0 dengan penambahan asam fosfat P, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan benzaldehid* Pipet 1 ml benzaldehid P ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama lebih kurang 50 mg 2-benzilaminopiridin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10 ml metanol P, sonikasi hingga larut, kemudian encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 5,0 ml Larutan benzaldehid, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Tripelenamin Hidroklorida BPFI, larutkan dalam *Fase gerak*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 242 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Pertahankan suhu kolom pada 35°. [Catatan Kolom baru dikondisikan dengan *Fase gerak* selama 1 malam sebelum digunakan dan setelah itu jika perlu dapat juga direkondisi.] Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif benzaldehid dan 2-benzilaminopiridin berturut-turut 0,75 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak benzaldehid dan 2-benzilaminopiridin tidak kurang dari 3,5. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom tidak kurang dari 10.000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

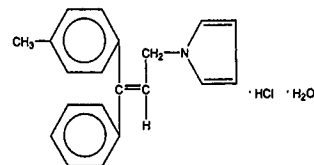
*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase tripelenamin hidroklorida, C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>.HCl dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

C<sub>S</sub> adalah kadar Tripelenamin Hidroklorida BPFI dalam mg per ml Larutan baku; C<sub>U</sub> adalah kadar tripelenamin hidroklorida dalam mg per ml Larutan uji; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya.

## TRIPROLIDIN HIDROKLORIDA Triprolidine Hydrochloride



(E)-2[3-(1-Pirrolidinil)-1-p-tolilpropenil]piridin monohidroklorida monohidrat [6138-79-0]

C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>.HCl.H<sub>2</sub>O

BM 332,87

Anhidrat [550-70-9]

BM 314,86

Tripolidin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>.HCl, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur putih, ringan; berbau tidak enak. Larutan bersifat basa; melebur pada suhu lebih kurang 115°.

**Kelarutan** Larut dalam air, dalam etanol dan dalam kloroform; tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** Tripolidin Hidroklorida BPFI; tidak boleh dikeringkan; tetapkan kadar air pada saat akan digunakan untuk analisis kuantitatif. Tripolidin Hidroklorida isomer-Z BPFI.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Tripolidin Hidroklorida BPFI.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 100.000) dalam asam klorida 0,1 N menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Tripolidin Hidroklorida BPFI; daya serap masing-masing dihitung terhadap zat anhidrat, pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 290 nm, berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

Air <1031> Metode I Antara 4,0% dan 6,0%

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

Arsen <321> Metode II Tidak lebih dari 4 bpj.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

#### Kemurnian kromatografi

*Fase gerak* Campuran kloroform *P*-dietilamin *P* (95:5)

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tripolidin Hidroklorida BPF*I, larutkan dalam kloroform *P* hingga kadar 1,0 mg per ml.

*Enceran larutan baku* Buat satu seri pengenceran *Larutan baku* dalam kloroform *P* hingga kadar 0,2 mg; 0,15 mg; 0,1 mg dan 0,05 mg per ml setara dengan 2,0%; 1,5%; 1,0% dan 0,5% terhadap cemaran uji.

*Larutan baku isomer-Z* Buat larutan baku *Tripolidin Hidroklorida isomer-Z BPF*I seperti tertera pada *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku* untuk *Tripolidin Hidroklorida BPF*I.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat uji, larutkan dalam kloroform *P* hingga kadar 10 mg per ml.

*Prosedur* Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji* dan delapan *Enceran larutan baku* pada lempeng kromatografi *silika gel* setebal 0,25 mm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi terlindung cahaya, dengan *Fase gerak* yang merambat hingga tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap. Amati lempeng di bawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Bandingkan bercak lain dari *Larutan uji* dengan bercak utama dari *Larutan baku*: intensitas bercak *tripolidin hidroklorida isomer-Z* (harga  $R_f$ , lebih kurang 1,2 kali  $R_f$  *tripolidin hidroklorida*) pada *Larutan uji* tidak lebih dari 2,0%, dan jumlah intensitas seluruh bercak lain *Larutan uji* tidak lebih dari 3,0%.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471> Metode I** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan *Larutan uji* dengan kadar 20 mg per ml dan *Larutan baku* dengan kadar dua kali *Larutan uji*.

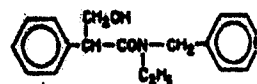
**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, larutkan dalam 80 ml *asam asetat glasial P*, jika perlu hangatkan. Tambahkan 15 ml *raksa(II) asetat LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 15,74 mg  $C_{19}H_{22}N_2.HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

#### TROPIKAMID

##### Tropicamide



(±)-*N*-Etil-2-fenil-*N*-(4-piridilmetil) hidrakilamida  
[1508-75-4]

$C_{17}H_{20}N_2O_2$

BM 284,36

Tropikamid mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{17}H_{20}N_2O_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau hablur putih; tidak berbau atau hampir tidak berbau.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; mudah larut dalam kloroform dan dalam asam kuat.

**Baku pembanding** *Tropikamid BPF*I; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas *fosfor pentoksida P* pada suhu 80° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tropikamid BPF*I.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 25 µg per ml dalam *asam klorida 3 N* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tropikamid BPF*I.

**Jarak lebur <1021> Metode I** Antara 96° dan 100°.

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas *fosfor pentoksida P* pada suhu 80° selama 4 jam, menggunakan 500 mg zat.

**Logam berat <371> Metode III** Tidak lebih dari 20 bpj.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 750 mg zat, larutkan dalam 80 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 4 tetes *kristal violet LP*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga titik akhir berwarna hijau biru. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 28,44 mg  $C_{17}H_{20}N_2O_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## TETES MATA TROPIKAMID Tropicamide Ophthalmic Solution

Tetes Mata Tropicamid adalah larutan steril Tropicamid dalam cairan, mengandung  $C_{17}H_{20}N_2O_2$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket. Mengandung bahan antimikroba yang sesuai dan dapat mengandung bahan yang dapat meningkatkan kekentalan.

**Baku pembanding** *Tropicamid BPFi*; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida *P* pada suhu 80° selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Ekstraksi 10 ml larutan tetes mata dengan 25 ml kloroform *P*, saring ekstrak kloroform melalui kertas saring berlipat yang kering dan uapkan filtrat hingga kering: residu yang diperoleh memenuhi *Identifikasi A* dalam *Tropicamid*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan yang diperoleh pada *Penetapan kadar* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Tropicamid BPFi*.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 5,8.

### Penetapan kadar

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Tropicamid BPFi* larutkan dalam larutan asam sulfat *P* (1 dalam 6) dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan pelarut yang sama hingga kadar lebih kurang 30 µg per ml.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume tetes mata setara dengan lebih kurang 30 mg Tropicamid, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam corong pisah, tambahkan 2 ml larutan natrium karbonat *P* (1 dalam 10). Ekstraksi empat kali, tiap kali dengan 20 ml kloroform *P*. Kumpulkan ekstrak kloroform dalam corong pisah lain. Cuci kumpulan ekstrak dengan 25 ml *Dapar fosfat* pH 6,5, pindahkan ke dalam corong pisah lain. Cuci lapisan air dengan 10 ml kloroform *P* dan gabungkan dengan ekstrak kloroform. Ekstraksi larutan kloroform 4 kali, tiap kali dengan 20 ml larutan asam sulfat *P* (1 dalam 6). Kumpulkan ekstrak asam dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan larutan asam sulfat *P* (1 dalam 6) sampai tanda.

*Prosedur* Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 253 nm menggunakan larutan asam sulfat *P* (1 dalam 6) sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg Tropicamid,  $C_{17}H_{20}N_2O_2$ , per ml tetes mata dengan rumus:

$$\left(\frac{C}{V}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

*C* adalah kadar *Tropicamid BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; *V* adalah volume tetes mata yang digunakan dalam ml; *A<sub>U</sub>* dan *A<sub>S</sub>* berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat dan hindarkan dari pembekuan.

## TUBERKULIN PPD Tuberculine Purified Protein Derivative

Tuberkulin PPD adalah sediaan yang dibuat dari pemanasan hasil pertumbuhan dan lisis dari satu atau lebih galur *Mycobacterium tuberculosis* yang menunjukkan hipersensitivitas terlambat pada hewan uji yang disensitisasi dengan mikroorganisme jenis yang sama.

Tuberkulin PPD dibuat dari fraksi larut air dari biakan mikobakteri yang tumbuh dalam medium pembenihan cair sintetik dengan cara pemanasan dalam uap bebas mengalir atau dalam otoklaf dan disaring. Fraksi aktif dalam filtrat yang terutama terdiri dari protein diisolasi dengan cara pengendapan, dicuci dan dilarutkan kembali. Sediaan ini bebas mikobakteri. Dapat ditambahkan pengawet anti mikroba yang tidak memberikan reaksi positif semu (seperti 0,5% fenol) dan stabilisator lain yang sesuai. Fenol tidak boleh ditambahkan dalam sediaan beku kering. Sediaan dapat diberikan dalam bentuk pekat atau encer sebagai cairan steril; bentuk encer dapat dibeku keringkan.

**Pemerian Cairan** agak keruh dan tidak berwarna atau kuning pucat, atau serbuk kering berwarna krim, berbentuk seperti jarum-jarum.

**Baku pembanding** *Tuberkulin PPD BPFi*.

**Identifikasi** Suntikkan dosis bertingkat sediaan uji secara intradermal pada marmut yang telah disensitisasi, pada tempat penyuntikan terbentuk reaksi yang bervariasi dari eritema hingga nekrosis. Bila penyuntikan yang sama dilakukan pada marmut yang tidak disensitisasi tidak terbentuk reaksi seperti tersebut di atas.

**pH** <1071> Antara 6,5 dan 7,5.

**Fenol** Tuberkulin PPD cair mengandung tidak lebih dari 0,5%: lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Bahan Tambahan dalam Vaksin dan Imunosera* <731>.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**Potensi** Tidak kurang dari 80% dan tidak lebih dari 125% dari jumlah yang tertera pada etiket. Batas kesalahan fidusial tidak kurang dari 64% dan tidak lebih dari 156% dari potensi yang tertera pada etiket. Lakukan penetapan dengan membandingkan dosis sediaan uji dan dosis sediaan baku yang dapat menunjukkan hipersensitivitas terlambat yang sama pada marmut atau hewan lain yang telah disensitisasi dengan mikobakteri dengan tipe yang sama seperti yang digunakan dalam pembuatan Tuberkulin PPD. Gunakan *dapar fosfat salin pH 7,4* mengandung 0,005% *polisorbat 80 P* untuk mengencerkan sediaan baku. Sediaan uji dan untuk rekonstitusi sediaan beku kering tanpa stabilisator.

**Prosedur** Sensitisasi tidak kurang dari 6 ekor marmut, bobot tubuh tidak kurang dari 400 g, dengan menyuntikkan secara intramuskular atau intradermal dosis yang sesuai suspensi mikobakteri tipe yang sama dalam pembuatan Tuberkulin PPD yang mengandung 0,1 mg per ml dalam *minyak mineral P* yang sesuai dengan atau tanpa bahan pengemulsi. Tidak kurang dari 1 bulan dan tidak lebih dari 6 bulan kemudian lakukan uji sebagai berikut: Depilasi marmut pada bagian punggung secukupnya untuk 6 penyuntikan tiap sisi atau 12 penyuntikan tiap hewan. Gunakan tiga dosis sediaan baku dan tiga dosis sediaan uji sehingga dosis tertinggi 10 kali dosis terendah. Encerkan sediaan secukupnya hingga menimbulkan lesi dengan diameter 8-25 mm. Suntikkan secara intradermal pada tempat penyuntikan yang tersedia dengan pola kuadrat latin sejumlah volume sama (0,1 atau 0,2 ml). Ukur diameter lesi setelah 24 jam hingga 48 jam dan hitung potensi dalam log dosis sediaan uji dan sediaan baku dengan cara statistik berdasarkan diameter lesi.

**Mikobakteri hidup** [Catatan Uji ini berlaku untuk Tuberkulin PPD pekat.] Suntikkan secara intraperitoneal atau subkutan 5,0 ml sediaan uji pada dua ekor marmut bobot tubuh 300 sampai 400 g. Amati hewan uji selama tidak kurang dari 42 hari. Bunuh hewan uji dan lakukan otopsi, tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala infeksi mikobakteri. Lakukan uji mikobakteri hidup dalam sediaan uji menggunakan media biakan yang sesuai tidak terjadi pertumbuhan mikobakteri.

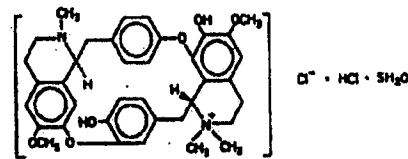
**Efek sensitisasi** [Catatan Uji ini berlaku untuk Tuberkulin PPD pekat.] Suntikkan secara intradermal dosis sediaan uji yang sesuai (misalnya 500 unit per 0,1 ml) tiga kali dengan selang waktu 5 hari pada masing-masing kelompok marmut terdiri dari tiga ekor. Setelah 15 hari hingga 21 hari dari penyuntikan ketiga, suntikkan secara intradermal dosis yang sama sediaan uji pada kelompok marmut di atas dan pada kelompok marmut kontrol dengan bobot tubuh sama yang sebelumnya tidak disuntikkan tuberkulin: reaksi dari dua kelompok hewan tidak berbeda secara signifikan setelah 48 jam samapai 72 jam.

**Toksitas** [Catatan Uji ini berlaku untuk Tuberkulin PPD pekat.] Suntikkan secara subkutan 0,5 ml larutan

mengandung 100.000 unit per ml pada 2 ekor marmut: tidak terbentuk efek yang berbahaya dalam waktu 7 hari.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah kaca steril terhindar cahaya, tertutup rapat untuk mencegah kontaminasi mikroba, simpan pada suhu 2° hingga 8°, tidak boleh dibekukan.

## TUBOKURARIN KLORIDA Tubocurarine Chloride



(+)-Tubokurarin klorida hidroklorida pentahidrat [6989-98-6]

$\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

BM 771,72

Anhidrat [57-94-3]

BM 681,66

Tubokurarin Klorida mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%  $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{ClN}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl}$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih atau putih kekuningan sampai putih kelabu. Melebur pada suhu lebih kurang 270° disertai peruraian.

**Kelarutan** Larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding** Tubokurarin Klorida BPFI. Tidak boleh di keringkan sebelum digunakan. Dalam wadah tertutup rapat. Gunakan seperti tertera pada etiket.

**Kejernihan larutan dalam etanol** Larutan 100 mg zat uji dalam 10 ml *etanol P*: jernih.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kaliun bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Tubokurarin Klorida BPFI*.

B. Kromatogram dari *Larutan uji* yang diperoleh pada *Penetapan kadar* memberikan puncak utama dengan waktu retensi yang sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

C. Larutan (1 dalam 100) menunjukkan reaksi *Klorida* cara A, B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +210° dan +224°, dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan menggunakan larutan 100 mg per 10 ml yang telah dibiarkan selama 3 jam.

Air <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 12,0%.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,25%.

**Senyawa sejenis** Dalam kromatogram yang diperoleh dari *Larutan uji* pada *Penetapan kadar*, jumlah respons puncak selain puncak tubokurarin, tidak lebih dari 5,0% dari jumlah semua respons puncak.

**Klorida** Tidak kurang dari 9,9% dan tidak lebih dari 10,7% dihitung terhadap zat anhidrat; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, larutkan dalam 5 ml air, hangatkan sedikit hingga larut. Tambahkan 5 ml *asam asetat glasial P* dan 50 ml *metanol P*, dinginkan hingga suhu ruang. Tambahkan 1 tetes *eosin Y LP* dan titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV*.

*Tiap ml perak nitrat 0,1 N  
setara dengan 3,545 mg Cl*

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran *asetonitril P-metanol P* (3:2), diamkan pada suhu ruang. Masukkan 270 ml larutan ini ke dalam gelas ukur 1000 ml, tambahkan 20,0 ml larutan *tetrametilamonium hidroksida P 25%* dalam *metanol P*, tambahkan air hingga 1 liter. Atur pH hingga 4,0 dengan penambahan *asam fosfat LP*, saring dan awaudarakan.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Tubokurarin Klorida BPFI*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,3 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Larutan kesesuaian sistem** Larutkan sejumlah tubokurarin klorida dan *fenol P* dalam *Fase gerak* hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,30 mg dan 0,50 mg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 220 nm dan kolom 25 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara dua puncak utama tidak kurang dari 2,0 dan faktor ikutan untuk tubokurarin klorida tidak lebih dari 2,0. Waktu retensi relatif untuk tubokurarin klorida dan fenol berturut-turut lebih kurang 0,50 dan 1,0. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*

ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg tubokurarin klorida,  $C_{37}H_{41}ClN_2O_6 \cdot HCl$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Tubokurarin Klorida BPFI* dalam mg per ml *Larutan baku*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## **WAKSIN BASIL CALMETTE-GUERIN BEKU KERING** **Bacillus Calmette-Guerin Vaccine**

Vaksin Basil Calmette-Guerin adalah sediaan yang mengandung bakteri hidup yang diperoleh dari galur berasal dari basil *Calmette* dan *Guerin* dan diketahui dapat melindungi manusia terhadap tuberkulosis. Vaksin beku kering direkonstitusi dengan cara steril yang sesuai, segera sebelum digunakan.

Vaksin dibuat dengan sistem lot benih. Galur dipilih dan dipelihara sedemikian rupa sehingga dapat mempertahankan stabilitas; mempunyai kemampuan membuat manusia dan marmut peka terhadap tuberkulin dan melindungi hewan uji terhadap tuberkulosis; serta relatif bebas dari patogenitas terhadap manusia dan hewan uji. Bets vaksin yang sesuai dibuat dari lot benih dan disimpan untuk digunakan sebagai vaksin baku dalam pengujian.

Vaksin dibuat dari biakan yang terpisah dari lot benih, tidak lebih dari 12 pasase. Selama berlangsungnya pasase sediaan tidak boleh dibekukeringkan lebih dari satu kali. Basil dibiakkan di permukaan media biakan tidak lebih dari 10 hari atau dibiarkan di dalam media yang sesuai tidak lebih dari 14 hari. Biakan dipanen dan disuspensikan di dalam media cair steril yang dapat melindungi viabilitas vaksin yang ditetapkan dengan metode perhitungan angka viabel yang sesuai. Sediaan vaksin dibekukeringkan sehingga kandungan air sesuai untuk stabilitas vaksin.

Pada uji hipersensitivitas diperlambat yang sesuai menggunakan marmut, aktivitas vaksin uji tidak berbeda dengan vaksin baku.

**Baku pembanding** Vaksin Basil *Calmette-Guerin Beku Kering BPFI*.

**Identifikasi** Lakukan identifikasi secara mikroskopik dengan membuat pewarnaan sediaan apus atau dengan penampilan koloni khas yang tumbuh pada media padat dan dengan uji hayati yang sesuai.

**Toksitas abnormal** Syarat uji *Toksitas Abnormal* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas Biologi secara In-vivo* <251> tidak berlaku pada Vaksin Basil Calmette-Guerin.

**Mikobakteri virulen** Suntikkan secara subkutan atau intramuskular pada 6 ekor marmut berbobot tubuh 250 g sampai 400 g, sejumlah vaksin kering setara dengan 50 dosis yang disuspensikan dalam sejumlah volume pengencer yang sesuai seperti tertera pada etiket. Tidak seekor hewan pun mati dalam waktu 42 hari setelah penyuntikan, atau bila seekor hewan mati, pemeriksaan setelah mati tidak menunjukkan gejala tuberkulosis. Bila dua ekor hewan mati selama periode pengamatan dan tidak menunjukkan gejala tuberkulosis, ulangi pengujian dengan menggunakan 6 ekor marmut lain. Pada pengujian kedua, tidak seekor hewan pun mati selama 42 hari setelah penyuntikkan, atau bila seekor hewan mati, pemeriksaan setelah mati tidak menunjukkan gejala tuberkulosis.

**Reaktivitas berlebih** Suntikkan secara intradermal pada 4 ekor marmut, bobot tubuh tidak kurang dari 250 g, masing-masing dengan dosis 100 µl, 10 µl dan 1 µl vaksin uji dan vaksin baku dengan dosis yang sama. Amati selama 4 minggu: reaksi kulit yang disebabkan oleh vaksin uji dan vaksin baku tidak berbeda secara bermakna.

**Syarat lain** Vaksin setelah direkonstitusi, memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Angka viabel** Lakukan penetapan jumlah unit bakteri hidup dalam vaksin yang telah direkonstitusi, dengan menghitung jumlah koloni pada media padat menggunakan metode yang sesuai untuk vaksin uji: jumlah unit bakteri hidup tidak kurang dari jumlah yang tertera pada etiket, serta efektif dan dapat diterima oleh kelompok umur yang divaksinasi.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup kedap, terhindar dari kontaminasi, terutama basil tuberkel yang virulen. Bila disimpan pada kondisi seperti tertera pada etiket, potensi vaksin beku kering diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 2 tahun. Jika sudah direkonstitusi, vaksin harus segera digunakan, jika ada yang tersisa harus dibuang.

## **VAKSIN CAMPAK, HIDUP** **Morbilla Vaccine, Live**

Vaksin Campak, Hidup adalah sediaan yang mengandung galur modifikasi yang sesuai dari virus campak hidup yang ditumbuhkan dalam biakan sel embrio ayam atau biakan sel lain yang memenuhi syarat. Vaksin kering yang direkonstitusi dengan cairan seperti tertera pada etiket, dibuat segera sebelum digunakan.

Vaksin campak tidak boleh mengandung zat pengawet antimikroba.

Pembuatan berdasarkan sistem lot benih dari virus bebas neurovirulen. Vaksin berasal dari lebih 10 subkultur dari lot benih yang pada uji laboratorium dan uji klinis menunjukkan galur sesuai.

Vaksin kering dapat dibuat dengan cara sebagai berikut: Virus dibiakkan secara aseptik dalam biakan primer sel embrio ayam atau sel lain yang sesuai. Embrio ayam berasal dari kelompok ayam sehat, bebas dari leukosis unggas (avian) dan biakan sel tidak mengandung mikroorganisme asing. Media untuk pertumbuhan awal sel dapat ditambah serum hewan, tetapi media untuk pemeliharaan biakan sel selama pengembangbiakan virus tidak boleh mengandung protein. Media biakan sel dapat mengandung indikator pH yang sesuai seperti merah fenol dan antibiotik yang sesuai dengan kadar efektif terkecil. Suhu inkubasi dikendalikan dengan saksama selama pembiakan virus.

Suspensi virus dipanen pada waktu yang sesuai dengan galur virus yang digunakan, kemudian dilakukan uji identifikasi, sterilitas dan bebas virus asing. Virus hasil panen yang telah memenuhi uji tersebut dikumpulkan dan dijernihkan untuk menghilangkan sel-sel. Pada vaksin yang telah jernih ditambahkan bahan stabilisator yang sesuai, kemudian dibekukeringkan hingga kandungan air sesuai untuk stabilitas vaksin.

Uji degradasi dipercepat dilakukan terhadap vaksin beku kering dengan memanaskan pada suhu 37° selama 7 hari. Penurunan titer virus setelah dipanaskan tidak lebih dari 1log<sub>10</sub> lebih rendah dari titer awal dan tidak kurang dari 3,0 log<sub>10</sub> DIKS50 per dosis.

**Identifikasi** Setelah dinetralkan dengan antiserum virus campak spesifik, vaksin tidak lagi menginfeksi biakan sel yang peka.

**Syarat lain** Vaksin setelah direkonstitusi memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Titer virus** Lakukan titrasi virus dalam biakan sel menggunakan 5 tabung untuk masing-masing pengenceran 0,5 log<sub>10</sub>, atau dengan metode lain dengan kepekaan sama. Titer virus tidak kurang dari titer yang tertera pada etiket dan tidak kurang dari 3,0 log<sub>10</sub> DIKS50 per dosis.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin kering diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 12 bulan sejak tanggal penetapan titer virus. Setelah direkonstitusi vaksin harus segera digunakan.

## **VAKSIN DEMAM KUNING, HIDUP** **Yellow Fever Vaccine, Live**

Vaksin Demam Kuning, Hidup adalah suspensi virus demam kuning galur 17D dalam air yang dibiakkan

dalam embrio telur ayam. Vaksin kering direkonstitusi dengan cairan yang tertera pada etiket, segera sebelum digunakan.

Pembuatan vaksin berdasarkan sistem lot benih. Vaksin merupakan hasil tidak lebih dari 3 subkultur benih vaksin asal, yang uji laboratorium dan uji kliniknya menunjukkan galur sesuai persetujuan instansi yang berwenang. Virus dibiarkan dalam embrio telur ayam berasal dari kelompok ayam yang sesuai, bebas dari mikroba patogen spesifik. Setelah inkubasi, ekstraksi virus dari fase air telur yang telah terinfeksi, dan jernihkan. Dapat ditambahkan antibiotik yang sesuai. Suspensi yang telah jernih diuji terhadap identifikasi sterilitas dan bebas dari zat asing. Virus hasil panen yang memenuhi syarat dikumpulkan, campur dengan stabilisator yang sesuai, dibagi secara aseptik ke dalam wadah steril dan dibekukeringkan hingga mengandung air yang sesuai untuk stabilitas vaksin. Kemudian tutup untuk mencegah kontaminasi dan kelembaban.

Uji penurunan dipercepat dilakukan pada suhu 37° selama 7 hari. Titer virus setelah dipanaskan tidak lebih dari 1 log<sub>10</sub> lebih rendah dari nilai titer awal dan tidak kurang dari jumlah unit pembentuk plak setara dengan 3,0 log<sub>10</sub> DL50 mencit.

**Syarat lain** Vaksin setelah direkonstitusi memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Identifikasi** Jika dicampur dengan imunoserum demam kuning spesifik, kemampuan untuk menginfeksi biakan sel yang peka akan berkurang secara signifikan.

**Nitrogen protein** Tidak lebih dari 0,25 mg per dosis.

**Toksitas abnormal** Memenuhi syarat uji *Toksitas Abnormal* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi In-vivo* <251>. Lakukan penetapan menggunakan 10 dosis (sebagai ganti 1 dosis) untuk tiap marmut dan amati selama 21 hari (sebagai ganti 7 hari).

**Titer virus** Lakukan penetapan kandungan virus dalam vaksin yang telah direkonstitusi dan dibiarkan pada suhu 20° hingga 30° selama 20 menit, dengan metode pembentuk plak dalam biakan sel yang sesuai (seperti sel Vero) menggunakan satu seri pengenceran vaksin berkelipatan 4 dalam media yang sesuai.

Dosis yang tertera pada etiket mengandung tidak kurang dari jumlah unit pembentukan plak setara dengan 1000 DL50 mencit. Kesetaraan unit pembentuk plak dengan DL50 telah ditetapkan sebelumnya atas persetujuan instansi yang berwenang.

**Wadah dan penyimpanan** Jika disimpan pada kondisi yang telah ditentukan, dapat bertahan tidak kurang dari 2 tahun. Setelah direkonstitusi vaksin harus segera digunakan.

## WAKSIN DIFTERI DAN TETANUS JERAP Diphtheria and Tetanus Vaccine, Adsorbed

Vaksin Difteri dan Tetanus Jerap dibuat dari toksoid formol difteri yang mengandung tidak kurang dari 1500 Limes flocculationis (Lf) per mg nitrogen protein, toksoid formor tetanus tidak kurang dari 1000 Limes flocculationis (Lf) per mg nitrogen protein dan zat pembawa mineral aluminium hidroksida hidrat, aluminium fosfat atau kalsium fosfat, dalam larutan *natrium klorida* P 0,9% atau larutan isotonik lain. Toksoid formol dibuat dari toksin yang dihasilkan oleh pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* dan *Clostridium tetani* berturut-turut dalam media yang sesuai. Antigenisitas vaksin Difteri dan Tetanus Jerap sangat dipengaruhi oleh zat pengawet antimikroba, terutama golongan fenol, sehingga zat tersebut tidak boleh ditambahkan pada Vaksin Difteri dan Tetanus Jerap.

**Baku pembanding** *Vaksin Difteri Jerap BPF* dan *Vaksin Tetanus Jerap BPF*.

### Identifikasi

A. Larutkan sejumlah *natrium sitrat* P dalam sediaan uji hingga diperoleh larutan 10%. Simpan pada suhu 37° selama 16 jam dan sentrifus hingga diperoleh cairan jernih. Beningan bereaksi dengan imunoserum difteri yang sesuai: terbentuk endapan.

B. Beningan yang diperoleh pada uji A, bereaksi dengan imunoserum tetanus yang sesuai: terbentuk endapan.

**Toksitas spesifik** Suntikkan secara subkutan sejumlah 5 kali dosis sediaan uji seperti tertera pada etiket pada masing-masing 5 ekor marmut. Tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala atau mati karena keracunan toksin difteri atau tetanus selama 42 hari. Jika selama periode pengamatan, lebih dari satu hewan mati karena penyebab tidak spesifik, ulangi pengujian. Pada pengujian kedua tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala atau mati karena keracunan toksin difteri atau tetanus atau karena sebab lain dalam waktu 42 hari.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

### Penetapan potensi

A. Potensi vaksin difteri tidak kurang dari 30 unit per dosis. Lakukan penetapan dengan membandingkan dosis sediaan uji dan dosis sediaan baku yang memberikan perlindungan sama bagi marmut terhadap efek eritrogenik toksin difteri yang diberikan secara intradermal.

**Hewan uji** Gunakan marmut dari asal yang sama, kelompokkan menjadi 6 kelompok masing-masing 16 ekor dan 1 kelompok terdiri dari 4 ekor, dari jenis kelamin yang sama atau jenis kelamin berbeda yang dibagi merata di antara kelompok.

**Pemilihan toksin tantang** Gunakan toksin difteri yang mengandung sejumlah toksin bebas, encerkan hingga 0,00025 Lf per ml, dan suntikkan sejumlah 0,2 ml (0,00005 Lf) secara intradermal pada punggung marmut yang telah dicukur: timbul reaksi eritema yang nyata setelah 48 jam.

**Larutan toksin tantang** Segera sebelum digunakan encerkan toksin tantang dengan pengencer yang sesuai hingga diperoleh larutan toksin tantang yang mengandung 0,005 Lf per 0,2 ml. Encerkan sebagai larutan toksin tantang 100 kali, menggunakan dapar yang sama.

**Prosedur** Buat seri pengenceran sediaan uji dan sediaan baku dalam larutan *natrium klorida P 0,9%*, masing-masing 3 pengenceran dengan kelipatan tidak lebih dari 2,5. Kadar dipilih sedemikian sehingga bila sejumlah 1,0 ml kadar tengah disuntikkan secara subkutan pada marmut, akan melindungi lebih kurang 50% hewan uji terhadap efek eritrogenik dari sejumlah tertentu toksin difteri yang disuntikkan secara intradermal. Alokasikan tiap enceran pada masing-masing kelompok marmut yang terdiri dari 16 ekor. Suntikkan secara subkutan 1,0 ml tiap enceran pada tiap marmut dalam masing-masing kelompok yang dialokasikan. Setelah 28 hari suntikkan secara intradermal sejumlah 0,2 ml *larutan toksin tantang* (0,005 Lf) pada tiap marmut yang telah dicukur punggungnya. Pada tiap marmut dari kelompok yang terdiri dari 4 ekor, suntikkan *larutan toksin tantang* dengan cara yang sama sebanyak 0,2 ml. Pada tempat yang berdekatan suntikkan juga 0,2 ml *larutan toksin tantang* yang telah diencerkan 100 kali. Setelah 2 hari amati adanya reaksi eritema pada semua marmut. Hitung potensi relatif vaksin uji terhadap potensi sediaan baku berdasarkan jumlah hewan yang menunjukkan reaksi eritema yang bermakna, menggunakan metode statistik yang sesuai. Uji tidak absah kecuali jika dosis sediaan uji maupun sediaan baku yang dapat melindungi 50% hewan uji terletak di antara dosis terendah dan tertinggi; marmut yang disuntik secara intradermal dengan *larutan toksin tantang* dan *larutan toksin tantang* yang telah diencerkan 100 kali, menunjukkan reaksi eritema pada tempat penyuntikan; dan analisis statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan linieritas atau kesejajaran. Pengujian dapat diulang beberapa kali; jika dilakukan beberapa kali pengujian, potensi dihitung berdasarkan semua hasil uji yang absah.

[Catatan Sebagai metode alternatif untuk menetapkan potensi dapat digunakan metode lain yang mempunyai ketelitian sama.]

B. Potensi vaksin tetanus tidak kurang dari 40 unit per dosis. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan potensi dalam Vaksin Tetanus Jerap*.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin diharapkan dapat bertahan tidak kurang dari 5 tahun sejak tanggal potensi ditetapkan.

## **WAKSIN DIFTERI, TETANUS DAN PERTUSIS JERAP** **Diphtheria, Tetanus and Pertusis Vaccine, Adsorbed**

Vaksin Difteri, Tetanus dan Pertusis Jerap dibuat dari toksoid formol difteri yang mengandung tidak kurang dari 1500 Limes flocculationis (Lf) per mg nitrogen protein, toksoid formol tetanus yang mengandung tidak kurang dari 1000 Lf per mg nitrogen protein, suspensi *Bordetella pertussis* mati dan zat pembawa mineral aluminium hidroksida hidrat atau aluminium fosfat atau kalsium fosfat, dalam larutan *natrium klorida P 0,9%* atau larutan isotonik lain yang sesuai. Toksoid formol difteri dibuat dari toksin yang dihasilkan oleh pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*, dan toksoid formol tetanus dibuat dari toksin yang dihasilkan oleh pertumbuhan *Clostridium tetani* masing-masing dalam media yang sesuai dengan darah. Suspensi *Bordetella pertussis* mati dibuat dengan cara: Satu atau lebih galur *Bordetella pertussis* yang sesuai dibiakkan secara terpisah selama 24 sampai 72 jam, menggunakan media biakan cair atau padat yang sesuai dan tidak mengandung darah. Bakteri dipanen dan disuspensikan dalam larutan *natrium klorida P 0,9%* atau larutan isotonik lain yang sesuai, dan opasitas suspensi diukur. Hasil penetapan opasitas digunakan sebagai dasar perhitungan untuk pembuatan vaksin pada semua tahap berikutnya. Bakteri dinaktifkan dengan zat kimia yang sesuai atau dengan pemanasan pada suhu 56°. Suspensi disimpan pada suhu 2° sampai 8° hingga 3 bulan untuk mengurangi toksisitasnya. Antigenitas Vaksin Difteri, Tetanus dan Pertusis Jerap sangat dipengaruhi oleh zat pengawet antimikroba, terutama golongan fenol dan beberapa golongan amonium kuaterner, sehingga zat tersebut tidak boleh ditambahkan pada Vaksin Difteri, Tetanus dan Pertusis Jerap.

**Baku pembanding** *Vaksin Difteri Jerap BPF1; Vaksin Tetanus Jerap BPF1 dan Vaksin Pertusis BPF1*.

### **Identifikasi**

A. Larutkan sejumlah *natrium sitrat P* dalam sediaan uji hingga diperoleh larutan 10%. Simpan pada suhu 37° selama lebih kurang 16 jam dan sentrifug hingga diperoleh cairan jernih. Beningan bereaksi dengan imunoserum difteri yang sesuai: terbentuk endapan.

B. Beningan yang diperoleh pada uji A bereaksi dengan imunoserum tetanus yang sesuai: terbentuk endapan.

C. Tambahkan antiserum *Bordetella pertussis* yang sesuai pada sediaan uji: terbentuk aglutinasi.

**Toksisitas Spesifik** Suntikkan secara subkutan sejumlah 5 kali dosis sediaan uji seperti tertera pada etiket pada masing-masing 5 ekor marmut. Tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala, atau mati karena keracunan toksin difteri atau tetanus selama 42 hari. Jika selama periode



pengamatan lebih dari satu hewan mati karena penyebab yang tidak spesifik, ulangi pengujian. Pada pengujian kedua tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala atau mati karena keracunan toksin difteri atau tetanus, atau karena sebab lain dalam waktu 42 hari.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

#### **Penetapan potensi**

A. Potensi vaksin difteri tidak kurang dari 30 unit per dosis. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan potensi A* dalam *Vaksin Difteri dan Tetanus Jerap*.

B. Potensi vaksin tetanus tidak kurang dari 40 unit per dosis, atau jika pengujian dilakukan pada mencit, tidak kurang dari 60 unit per dosis. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan potensi* dalam *Vaksin Tetanus Jerap*.

C. Potensi vaksin pertusis tidak kurang dari 4 unit per dosis dan batas kesalahan fidusial terendah tidak kurang dari 2 unit per dosis, yang tidak lebih dari 1 ml. Lakukan penetapan dengan membandingkan dosis sediaan uji dan dosis sediaan *Baku Pembanding Vaksin Pertusis BPF1* yang dapat memberikan perlindungan yang sama bagi mencit terhadap dosis letal intraserebral *Bordetella pertussis*.

*Pemilihan galurantang dan pembuatan suspensi tantang* Gunakan *Bordetella pertussis* yang sesuai dan dapat menyebabkan kematian mencit dalam waktu 14 hari setelah penyuntikan secara intraserebral. Jika dalam waktu 48 jam setelah penyuntikan, lebih dari 20% hewan mati, galur dianggap tidak sesuai. Buat satu subkultur dari galur di atas dan suspensikan hasil panen *Bordetella pertussis* dalam larutan yang mengandung *kasein hidrolisat P 1%* dan *natrium klorida P 0,6%*, pH 7,0 - 7,2 atau dalam larutan lain yang sesuai. Tetapkan opasitas suspensi. Buat satu seri pengenceran pada larutan yang sama, alokasikan tiap enceran pada masing-masing kelompok mencit yang terdiri dari 10 ekor. Suntikkan secara intraserebral 0,02 ml atau 0,03 ml tiap enceran pada tiap mencit dalam masing-masing kelompok yang dialokasikan. Setelah 14 hari hitung jumlah mencit yang hidup dari masing-masing kelompok. Dari hasil tersebut hitung opasitas suspensi yang mengandung 100 DL50 dalam setiap dosis tantang. Untuk penetapan potensi vaksin, buat subkultur segar dari galur *Bordetella pertussis* yang sama, dan dari panen bakteri buat suspensi dengan opasitas yang setara dengan lebih kurang 100 DL50 dalam setiap dosis tantang. Buat tiga pengenceran suspensi tantang.

*Hewan uji* Gunakan mencit putih dari galur yang sesuai dari sumber yang seragam, umur kurang dari 5 minggu, perbedaan bobot tubuh tidak lebih dari 5 gram. Kelompokkan menjadi 6 kelompok masing-masing terdiri dari 16 ekor dan 4 kelompok masing-masing terdiri dari 10 ekor; dari jenis kelamin yang sama atau jenis kelamin berbeda yang dibagi merata di antara kelompok. Untuk 3 kelompok yang terdiri dari 16 ekor

menerima sediaan baku dan 3 kelompok lainnya menerima sediaan uji, sedang 4 kelompok yang terdiri dari 10 ekor digunakan untuk penetapan DL50 suspensi tantang.

*Prosedur* Gunakan 3 dosis sediaan baku dalam pelarut yang sesuai dan 3 dosis sediaan uji yang disuspensikan dengan larutan yang sesuai. Ketiga dosis diatur sedemikian sehingga dosis yang melindungi 50% mencit mendekati dosis tengah. Umumnya digunakan dosis 0,5 unit; 0,1 unit dan 0,02 unit sediaan baku dan (1 dalam 8); (1 dalam 40) dan (1 dalam 200) enceran sediaan uji, masing-masing dosis tidak lebih dari 0,5 ml. Suntikkan setiap mencit satu dosis secara intraperitoneal. Setelah 14 hingga 17 hari, suntikkan mencit secara intraserebral satu dosis suspensi tantang *Bordetella pertussis*. Pada saat yang sama suntikkan secara intraserebral pada 4 kelompok mencit terdiri dari 10 ekor suspensi tantang dengan enceran yang sesuai untuk menetapkan DL50 dalam dosis yang diberikan pada mencit yang telah diinokulasi. Amati mencit tiap hari selama 14 hari setelah penyuntikan dengan suspensi tantang. Hitung potensi vaksin menggunakan metode statistik baku, berdasarkan jumlah mencit yang hidup, tidak termasuk mencit yang mati dalam waktu 48 jam setelah penyuntikan suspensi tantang. Jika perlu, ulangi pengujian, jika dilakukan lebih dari satu kali pengujian, potensi dan batas keyakinan dihitung berdasarkan semua hasil uji yang absah. Uji tidak absah kecuali jika dosis sediaan uji dan sediaan baku yang dapat melindungi 50% hewan uji terletak diantara dosis tertinggi dan terendah yang diberikan pada mencit, kurva dosis respons menunjukkan kemiringan yang bermakna dengan deviasi yang tidak bermakna, terhadap kesejajaran atau linieritas dan dosis tantang lebih kurang 100 DL50.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 2 tahun sejak tanggal potensi ditetapkan.

## **WAKSIN HEPATITIS B ASAL PLASMA MANUSIA**

### **Hepatitis B Vaccine Human Plasma Origin**

Vaksin Hepatitis B asal Plasma Manusia adalah sediaan yang mengandung antigen permukaan Hepatitis B (HbsAg), diperoleh dari plasma yang telah mengalami inaktivasi terhadap virus Hepatitis B dan virus lain yang terdapat dalam darah manusia.

**Baku pembanding** *Vaksin Hepatitis B BPF1*.

**Pirogen** <231> Memenuhi syarat.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Penetapan potensi** Lakukan penetapan menggunakan metode kuantitatif yang sesuai dengan cara sebagai berikut: Kepada tiap kelompok mencit tidak kurang dari 20 ekor, berumur 5 minggu, suntikkan secara intraperitoneal vaksin Hepatitis B mengandung ajuvan dengan dosis vaksin bertingkat. Vaksin diencerkan dengan pelarut mengandung ajuvan yang digunakan dalam vaksin. Pada kelompok mencit lain yang serupa suntikkan sediaan baku mengandung ajuvan. Ambil darah setelah 28 hari dan pisahkan serum. Lakukan penetapan antibodi menggunakan metode kuantitatif yang peka seperti Penetapan Imuno Radio (RIA) atau Penetapan Imuno Enzim (EIA). Lakukan analisis data menurut serokonversi dan titer anti HBs rata-rata geometrik, untuk tiap dosis antigen. Galur mencit yang digunakan harus memberi ketajaman kurva dosis respons terhadap antigen baku. Potensi dihitung dalam 50% respons antibodi hewan uji (DE50).

**Wadah dan penyimpanan** Simpan pada suhu seperti tertera pada etiket.

## **WAKSIN KOLERA** **Cholera Vaccine**

Vaksin Kolera adalah suspensi homogen beberapa galur *Vibrio cholerae* atau galur lain yang sesuai, mengandung tidak kurang dari 8000 juta bakteri per dosis, yang tidak lebih dari 1 ml.

Pembuatan berdasarkan sistem lot benih. Vaksin terdiri dari bagian yang sama, vaksin yang dibuat dari galur halus dari dua tipe serologik utama, Inaba dan Ogawa, dapat berupa biotipe klasik dengan atau tanpa biotipe El-Tor. Dapat berupa galur tunggal atau beberapa galur dari tiap tipe. Sebagai tambahan terhadap tipe antigen-O, semua galur harus mengandung antigen-O tahan panas yang biasa terdapat pada Inaba dan Ogawa. Bila digunakan lebih dari satu galur untuk masing-masing Inaba dan Ogawa, harus dipilih sedemikian rupa sehingga mengandung antigen-O lain sebagai tambahan. Masing-masing dibiarkan secara terpisah. Bakteri dimatikan dengan memanaskan suspensi (misalnya pada suhu 56° selama 1 jam); atau dengan penambahan bakterisida yang sesuai seperti formaldehida atau fenol; atau dengan kombinasi cara fisika dan kimia.

Vaksin kolera tersedia dalam bentuk cair atau beku kering yang direkonstitusi dulu dengan pelarut steril yang sesuai segera sebelum digunakan. Sediaan vaksin beku kering tidak boleh ditambah fenol.

**Identifikasi** Lakukan penetapan dengan cara aglutinasi khas.

**Antigenisitas** Lakukan uji kemampuan vaksin untuk menginduksi antibodi (seperti aglutinasi, vibriosida atau hemaglutinasi antibodi) pada marmut, kelinci, atau mencit dengan cara sebagai berikut: Suntikkan sejumlah vaksin kepada satu kelompok terdiri dari paling sedikit

6 ekor hewan uji. Pada akhir waktu yang diperlukan untuk pembentukan antibodi maksimum, berdasarkan hasil uji pendahuluan, kumpulkan serum dari masing-masing hewan uji, tetapkan titer antibodi yang sesuai dari masing-masing serum menggunakan metode yang sesuai: masing-masing tipe serologi menunjukkan respons antibodi yang bermakna.

**Fenol** Vaksin kolera cair mengandung tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Vaksin*.

**Toksisitas abnormal** Memenuhi syarat; lakukan uji *Toksisitas Abnormal* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi in-vivo <251>*, menggunakan dosis uji 0,5 ml pada masing-masing mencit dan 1 ml pada masing-masing marmut.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Wadah dan penyimpanan** Potensi vaksin cair diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 18 bulan jika disimpan pada kondisi yang ditentukan. Untuk vaksin kering, potensi diharapkan dapat bertahan tidak kurang dari 5 tahun jika disimpan pada kondisi yang ditentukan. Jika telah direkonstitusi, vaksin harus segera digunakan.

## **WAKSIN POLIO ORAL, HIDUP** **Poliomyelitis Vaccine, Live (Oral)**

Vaksin Polio Oral, Hidup adalah suspensi dalam air dari galur pilihan virus *Poliomyelitis* tipe 1, tipe 2 atau tipe 3 hidup yang dilemahkan, ditumbuhkan dalam biakan sel yang memenuhi syarat. Sediaan dapat mengandung satu tipe virus atau campuran dari dua atau tiga tipe virus. Sediaan berupa cairan jernih dan stabil.

Pembuatan berdasarkan sistem lot benih. Vaksin berasal dari tidak lebih 3 subkultur dari lot benih yang pada uji laboratorium dan uji klinis menunjukkan galur sesuai yang telah diakui oleh instansi yang berwenang. Masing-masing tipe virus dibiakkan dalam biakan sel yang telah bebas dari cemaran mikroorganisme asing. Media untuk pertumbuhan awal sel dapat ditambahkan serum hewan, tetapi media untuk pemeliharaan biakan sel selama pengembangbiakan virus, tidak boleh mengandung protein. Media biakan sel dapat mengandung indikator pH yang sesuai, seperti merah fenol dan antibiotik yang sesuai dengan kadar efektif terkecil.

Suspensi virus dipanen dan dilakukan uji identifikasi, sterilitas dan bebas virus asing. Kumpulkan virus yang telah memenuhi syarat dan saring melalui penyaring bakteri. Pada virus yang telah disaring, dilakukan uji identifikasi, kemampuan tumbuh pada suhu yang berbeda dan penetapan konsentrasi virus dalam biakan sel. Uji neurovalen dilakukan dengan penyuntikkan secara intraspinal pada *Macaca irus* (kera *Cynomolgus*)

atau hewan sejenis yang peka. Uji secara bersamaan vaksin uji dan vaksin homotipik pembandingan menggunakan kera yang berasal dari satu betis karantina.

**Identifikasi** Setelah dinetralkan dengan antiserum polio spesifik, vaksin tidak lagi menginfeksi biakan sel yang peka.

**Toksisitas abnormal** Memenuhi syarat uji *Toksisitas abnormal* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi in-vivo* <251>. Lakukan penetapan menggunakan marmut.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Titer virus** Lakukan titrasi virus dalam biakan sel, menggunakan 5 tabung biakan sel untuk masing-masing pengenceran  $0,5 \log_{10}$ , atau dengan metode tipe lain dengan kepekaan sama. Titer virus tipe 1 dan tipe 3 tidak kurang dari  $5,5 \log_{10}$  DIK50 per dosis tunggal manusia.

**Wadah dan penyimpanan** Simpan pada suhu seperti tertera pada etiket (misalnya  $-25^{\circ}$ ), mengingat sifat stabilisator yang digunakan. Bila telah dicairkan, harus disimpan pada suhu  $2^{\circ}$  sampai  $8^{\circ}$  dan digunakan dalam waktu 6 bulan. Bila disimpan pada suhu yang lebih tinggi, harus segera digunakan dalam beberapa jam.

### **WAKSIN POLISAKARIDA MENINGOKOKUS Meningococcal Polysaccharide Vaccine**

Vaksin Polisakarida Meningokokus terdiri dari satu atau lebih polisakarida murni yang diperoleh dari galur yang sesuai *Neisseria meningitidis* kelompok A, C, Y dan W135 yang telah terbukti mampu menghasilkan polisakarida yang aman dan dapat menginduksi antibodi spesifik pada manusia. Vaksin kering yang stabil direkonstitusi dengan cairan steril yang sesuai segera sebelum digunakan. Vaksin dapat mengandung satu tipe polisakarida atau campuran dari beberapa tipe.

Polisakarida *N.meningitidis* kelompok A sebagian terdiri dari unit berulang N-asetilmanosamina terasetilasi pada O, terikat dengan  $1\alpha \rightarrow 6$  fosfodiester.

Polisakarida *N.meningitidis* kelompok C sebagian terdiri dari unit berulang asam sialat yang terasetilasi pada O, terikat dengan  $2\alpha \rightarrow 9$  glikosidik.

Polisakarida *N.meningitidis* kelompok Y sebagian terdiri dari unit yang menggantikan asam sialat dan D-glukosa yang terasetilasi pada O, terikat dengan  $2\alpha \rightarrow 6$  glikosidik dan  $1\alpha \rightarrow 4$  glikosidik.

Polisakarida *N.meningitidis* kelompok W135 sebagian terdiri dari unit berulang asam sialat dan D-glukosa yang terasetilasi pada O, terikat dengan  $2\alpha \rightarrow 6$  glikosidik dan  $1\alpha \rightarrow 4$  glikosidik.

Komponen polisakarida atau komponen yang tertera pada etiket bersama dengan ion kalsium dan kandungan air tidak kurang dari 90% dari bobot sediaan.

Pembuatan vaksin berdasarkan sistem lot benih. Pada tiap lot benih dilakukan uji mikrobiologi dengan biakan dalam media yang sesuai dan pemeriksaan mikroskopik sediaan apus dengan pewarnaan Gram. Polisakarida yang telah bebas dari kontaminasi bakteri diendapkan dengan penambahan setrimonium bromida, kemudian dimurnikan.

Masing-masing polisakarida dilarutkan secara aseptik dalam larutan steril yang mengandung laktosa atau stabilisator lain yang sesuai untuk beku kering. Bila perlu larutan diblender dengan larutan polisakarida atau seluruh kelompok lain dan disaring melalui penyaring bakteri. Filtrat dibekukeringkan hingga mengandung air sesuai untuk stabilitas vaksin.

**Pemerian** Vaksin kering berbentuk serbuk putih atau pelet.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air.

**Identifikasi** Lakukan penetapan menggunakan metode imunokimia yang sesuai.

**Ukuran molekul** Lakukan dengan cara *Kromatografi eksklusi* berdasarkan ukuran seperti tertera pada *Kromatografi* <931>, menggunakan sejumlah vaksin yang mengandung lebih kurang 2,5 mg tiap polisakarida dalam volume lebih kurang 1,5 ml; kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor serapan ultraviolet dan kolom lebih kurang 90 cm x 16 mm berisi Agarosa FC atau Agarosa FC sambung silang. Fase gerak mempunyai kekuatan ion 0,2 molal dan pH 7,0 - 7,5 dengan laju alir lebih kurang 20 ml per jam.

Kumpulkan fraksi lebih kurang 3 ml dan tetapkan kandungan masing-masing polisakarida dengan metode yang sesuai: tidak kurang dari 65% polisakarida kelompok A; 75% polisakarida kelompok C; 80% polisakarida kelompok Y dan 80% polisakarida kelompok W135 tereluasi sebelum koefisien distribusi ( $K_{av}$ ) 0,50 dicapai. Bahan untuk kalibrasi dapat ditambahkan secukupnya ke dalam vaksin, seperti *dekstran biru 2000 P* untuk penetapan  $V_0$  dan *natrium azida P* untuk penetapan  $V_r$ .

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 3%. Lakukan penetapan dengan cara memanaskan 10 mg pada suhu  $56^{\circ}$  di atas *fosfor pentoksida P*, tekanan 0,007 mmHg hingga 0,03 mmHg hingga bobot tetap; tetapkan harga rata-rata dari tiga kali pengujian.

**Toksisitas abnormal** Memenuhi syarat *Uji toksisitas abnormal* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi in-vivo* <251>. Lakukan penetapan menggunakan 2 dosis untuk tiap ekor mencit, dan 10 dosis untuk tiap ekor marmut.

**Pirogen** <231> Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan dosis uji 1 ml larutan per kg bobot kelinci

yang mengandung sejumlah vaksin setara dengan 0,025 µg masing-masing polisakarida.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

#### Penetapan kadar

*Vaksin monospesifik* Untuk vaksin kelompok A, tetapkan kadar fosfor per wadah. Untuk vaksin kelompok C, kelompok Y dan kelompok W135, tetapkan kadar asam sialat (dihitung sebagai asam N-asetilneuraminat) per wadah.

*Fosfor* Tidak kurang dari 75 mg fosfor per gram polisakarida kelompok A seperti tertera pada etiket. Lakukan penetapan dengan cara spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>*. Pindahkan semua isi dari satu atau beberapa wadah ke dalam labu ukur yang sesuai hingga diperoleh larutan yang mengandung polisakarida kelompok A lebih kurang 80 µg per ml, encerkan dengan air sampai tanda. Masukkan 1,0 ml ke dalam tabung pemijar 10 ml, tambahkan 0,2 ml *asam sulfat P*. Panaskan dalam tangas minyak pada suhu 160° hingga terlihat asap putih (lebih kurang 1 jam). Tambahkan 0,1 ml *asam perklorat P*, panaskan pada suhu 160° hingga warna hilang sempurna (lebih kurang 90 menit). Dinginkan dan tambahkan 4 ml air dan 4 ml *amonium molibdat LP (I)*. Panaskan dalam tangas air pada suhu 37° selama 90 menit, dinginkan. Tambahkan air hingga 10 ml, terjadi warna biru yang stabil selama beberapa jam. Ukur serapan pada 820 nm. Lakukan penetapan blangko, menggunakan 2,0 ml air dengan cara yang sama.

Tetapkan kadar fosfor menggunakan kurva kalibrasi yang diperoleh dengan mengukur serapan larutan baku sejumlah 0,5 ml; 1,0 ml dan 2,0 ml. Larutan baku dibuat dengan cara melarutkan 0,2194 g *kalium fosfat monobasa P* dalam 500 ml air hingga kandungan setara dengan 0,1 mg fosfor per ml, kemudian encerkan 5 ml larutan dengan air hingga 100 ml.

*Asam sialat* Tidak kurang dari 750 mg asam sialat per gram polisakarida kelompok C dan tidak kurang dari 520 mg untuk kelompok Y dan W135. Lakukan penetapan dengan cara spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>*. Pindahkan semua isi dari satu atau beberapa wadah ke dalam labu tentukur yang sesuai hingga diperoleh larutan yang mengandung polisakarida kelompok C, kelompok Y dan kelompok W135 lebih kurang 250 µg per ml, encerkan dengan air sampai tanda. Ambil 4 ml larutan menggunakan alat suntik, masukkan ke dalam sel ultrafiltrasi 10 ml yang sesuai untuk dilalui molekul dengan bobot molekul relatif kurang dari 50.000. Bilas alat suntik dua kali dengan air dan bilasan disaring melalui sel ultrafiltrasi. Lakukan ultrafiltrasi dengan pengadukan tetap, dengan dialiri *nitrogen P* pada tekanan lebih kurang 987 mmHg. Isi kembali sel dengan air setiap pengurangan cairan dalam tabung berkurang 1 ml, teruskan penyaringan

hingga 200 ml dan volume residu dalam sel lebih kurang 2 ml. Pindahkan cairan residu ke dalam labu tentukur 10-ml menggunakan alat suntik. Cuci sel tiga kali, tiap kali dengan 2 ml air, masukkan cucian ke dalam labu tentukur, encerkan dengan air sampai tanda. Ambil 2 ml larutan yang diperoleh, masukkan masing-masing ke dalam 2 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung tambahkan 5 ml *resorsinol LP (A)*, panaskan dalam tangas minyak pada suhu 105° selama 15 menit, dinginkan dalam air dingin, kemudian pindahkan tabung ke dalam tangas es. Pada masing-masing tabung tambahkan 5 ml *3-metilbutan-1-ol P*, campur saksama dan letakkan ke dalam tangas es selama 15 menit. Sentrifus tabung dan tetap simpan dalam tangas es. Ukur serapan masing-masing beningan pada 580 nm dan 450 nm menggunakan *3-metilbutan-1-ol P* sebagai blangko. Buat kurva kalibrasi menggunakan perbedaan antara serapan rata-rata pada 580 nm dan 450 nm, sebagai kandungan *asam N-asetilneuraminat*.

Untuk vaksin kelompok C, gunakan larutan acuan larutan *asam N-asetilneuraminat P* 0,015%, untuk vaksin kelompok Y gunakan larutan yang mengandung *asam N-asetilneuraminat P* 0,0095% dan *glukosa P* 0,0055%. Untuk vaksin kelompok W135 gunakan larutan yang mengandung *asam N-asetilneuraminat P* 0,0095% dan *galaktosa P* 0,0055%.

*Vaksin multispesifik* Vaksin mengandung 70% hingga 130% masing-masing polisakarida dari jumlah yang tertera pada etiket. Tetapkan jumlah masing-masing komponen polisakarida dengan metode imunokimia kuantitatif yang sesuai, menggunakan bahan pembandingan polisakarida yang dimurnikan dari kelompok yang digunakan dalam vaksin.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin kering diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 2 tahun.

## WAKSIN RABIES Rabies Vaccine

Vaksin Rabies adalah suspensi galur virus rabies terolah yang sesuai dan yang ditumbuhkan dalam biakan sel yang memenuhi syarat dan dinaktivasi dengan metode yang sesuai. Vaksin kering yang direkonstitusi dengan cairan steril yang sesuai, dibuat segera sebelum digunakan.

Pembuatan berdasarkan sistem lot benih dan virus yang digunakan dalam vaksin berasal dari tidak lebih 5 subkultur dari lot benih yang pada uji laboratorium dan uji klinis menunjukkan galur sesuai. Media untuk pertumbuhan awal sel dapat ditambahkan serum hewan, tetapi media untuk pemeliharaan biakan sel selama pengembangbiakan virus tidak boleh mengandung protein. Serum yang terikut dalam vaksin tidak lebih 1 bpj. Media biakan sel dapat mengandung indikator pH yang sesuai seperti merah fenol, dan antibiotik yang sesuai dengan kadar efektif terkecil.

Suspensi virus dipanen satu kali atau lebih selama inkubasi. Hasil beberapa kali panen yang berasal dari lot sel tunggal dikumpulkan dan dianggap sebagai suspensi virus tunggal. Terhadap suspensi yang diperoleh dilakukan uji identifikasi, sterilitas dan bebas virus asing. Suspensi yang telah memenuhi uji tersebut diinaktivasi, dan dapat dimurnikan dan dipekatkan. Uji amplifikasi terhadap residu virus rabies infeksi dilakukan dalam biakan sel dari jenis yang sama seperti pada pembuatan vaksin untuk menentukan efektivitas inaktivasi virus rabies. Jumlah virus yang digunakan dalam pengujian setara dengan tidak kurang dari 25 dosis manusia. Contoh cairan biakan sel diinokulasikan ke dalam mencit: tidak terdeteksi virus hidup.

Vaksin dimasukkan ke dalam wadah steril secara aseptik dan dibekukeringkan. Wadah ditutup secara kedap udara. Kandungan air cukup rendah untuk mempertahankan stabilitas vaksin. Stabilitas potensi dibuktikan dengan uji penurunan dipercepat terhadap vaksin yang disimpan pada suhu 37°C selama 4 minggu.

**Baku pembanding** *Vaksin Rabies BPF1.*

**Identifikasi** Jika disuntikkan pada hewan yang peka: merangsang pembentukan antibodi rabies.

**Syarat lain** Vaksin setelah direkonstitusi memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaccina.*

**Penetapan potensi** Potensi vaksin rabies tidak kurang dari 2,5 unit per dosis dan batas kesalahan fidusia tidak kurang dari 25% dan tidak lebih dari 400%. Lakukan penetapan dengan membandingkan dosis sediaan uji dan sediaan baku yang memberikan perlindungan sama bagi mencit terhadap efek virus rabies dosis tertentu yang diberikan secara intraserebral.

**Hewan uji** Gunakan mencit sehat dari asal yang sama, umur lebih kurang 4 minggu dan bobot tubuh antara 11 g dan 15 g. Kelompokkan menjadi 6 kelompok masing-masing terdiri dari 16 ekor (untuk penetapan potensi) dan 4 kelompok masing-masing terdiri dari 10 ekor (untuk penetapan titer virusantang). Gunakan mencit dengan jenis kelamin sama atau jenis kelamin berbeda yang dibagi secara merata diantara kelompok. Selama pengujian, hitung mencit yang mati atau menunjukkan gejala rabies (paralisis atau konvulsi) antara hari kelima hingga keempat belas setelah penyuntikkan virus, mencit yang mati sebelum hari ke lima tidak dihitung.

**Suspensi virusantang** Tumbuhkan galur Virus Canine Street (CSV) dari virus rabies terolah dalam otak mencit. Panen virus dan buat sedemikian rupa hingga diperoleh suspensi virus yang jernih dan simpan dalam jumlah sedikit pada suhu di bawah -60°C.

Encerkan suspensi segera sebelum digunakan dengan cairan yang sesuai hingga diperoleh suspensi virusantang yang diperkirakan mengandung antara 5 dan 50 D150 per 0,03 ml berdasarkan hasil titrasi pendahuluan.

Tetapkan titer suspensi virusantang bersamaan dengan penetapan potensi vaksin.

**Penetapan titer suspensi virusantang** Buat tiga seri pengenceran suspensi virusantang. Alokasikan suspensi virusantang dan tiga pengencerannya pada masing-masing kelompok mencit yang terdiri dari 10 ekor. Suntikkan secara intraserebral 0,03 ml suspensi virusantang dan tiap encerannya pada tiap mencit dalam masing-masing kelompok yang dialokasikan. Amati mencit selama 14 hari. Hitung titer suspensi virusantang dalam D150 per 0,03 ml dengan metode statistik baku dari jumlah mencit yang mati atau menunjukkan gejala rabies (paralisis atau konvulsi).

**Prosedur** Rekonstitusi sediaan baku dengan cairan yang sesuai buat 3 seri pengenceran berkelipatan lima sediaan baku dan 3 seri pengenceran berkelipatan lima sediaan uji. Seri pengenceran sediaan uji dan sediaan baku dibuat sedemikian sehingga pengenceran terendah melindungi lebih dari 50% mencit yang telah disuntik cairanantang. Alokasikan tiap enceran sediaan baku dan sediaan uji pada masing-masing kelompok mencit yang terdiri dari 16 ekor. Suntikkan secara intraserebral 0,5 ml tiap enceran pada tiap mencit dalam masing-masing kelompok yang dialokasikan. Setelah 7 hari, buat 3 pengenceran yang sama masing-masing sediaan baku dan sediaan uji, ulangi penyuntikan. Setelah 7 hari kemudian, suntikkan secara intraserebral 0,03 ml suspensi virusantang pada tiap mencit yang telah divaksinasi. Amati mencit selama 14 hari. Hitung potensi sediaan uji dengan metode statistik baku dari jumlah mencit yang bertahan terhadapantang. Uji tidak absah kecuali jika dosis sediaan uji dan sediaan baku yang dapat melindungi 50% hewan uji terletak di antara dosis tertinggi dan terendah yang diberikan pada mencit, kurva dosis respons menunjukkan kemiringan yang signifikan dengan deviasi yang tidak signifikan terhadap kesejajaran atau linieritas dan titer suspensi virusantang antara 5 dan 50 D150.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin kering diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 2 tahun.

## **VAKSIN TETANUS JERAP Tetanus Vaccine, Adsorbed**

Vaksin Tetanus Jerap dibuat dari toksoid formol tetanus yang mengandung tidak kurang dari 1000 Limes flocculationis (Lf) per mg nitrogen protein dan pembawa mineral aluminium hidroksida hidrat, aluminium fosfat atau kalsium fosfat di dalam larutan *natrium klorida* P 0,9% atau larutan isotonic lain yang sesuai dengan darah. Toksoid formol dibuat dari toksin yang dihasilkan oleh pertumbuhan *Clostridium tetani* dalam media yang sesuai. Antigenitas vaksin tetanus jerap sangat dipengaruhi oleh zat pengawet anti mikroba, terutama golongan fenol, sehingga zat tersebut tidak boleh ditambahkan pada vaksin tetanus jerap.

### **Baku pembanding *Vaksin Tetanus Jerap BPF1.***

**Identifikasi** Larutkan sejumlah *natrium sitrat P* dalam sediaan uji hingga diperoleh larutan 10%. Simpan pada suhu 37° selama lebih kurang 16 jam dan sentrifug hingga diperoleh cairan jernih. Beningan bereaksi dengan imunoserum tetanus yang sesuai: terbentuk endapan.

**Toksitas spesifik** Suntikkan secara subkutan sejumlah 5 kali dosis sediaan uji seperti tertera pada etiket pada masing-masing 5 ekor marmut. Tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala tetanus atau mati karena tetanus selama 21 hari. Jika selama periode pengamatan lebih dari satu ekor hewan mati karena penyebab yang tidak spesifik, ulangi pengujian. Pada pengujian kedua tidak seekor hewan pun menunjukkan gejala tetanus atau mati karena tetanus atau sebab lain dalam waktu 21 hari.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin.*

**Penetapan potensi** Tidak kurang dari 40 unit per dosis. Lakukan penetapan dengan membandingkan dosis sediaan uji dan dosis sediaan baku yang memberikan perlindungan sama bagi marmut atau mencit terhadap efek paralitik toksin tetanus yang disuntikkan secara subkutan.

A. Dengan penyuntikkan marmut.

*Hewan uji* Gunakan marmut dari asal yang sama, kelompokkan menjadi 6 kelompok masing-masing terdiri dari 16 ekor dan 4 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor, dari jenis kelamin sama atau jenis kelamin berbeda yang dibagi merata di antara kelompok.

*Pemilihan toksin tantang* Gunakan sediaan toksin tetanus yang mengandung tidak kurang dari 50 kali dosis paralitik 50% per ml.

*Larutan toksin tantang* Segera sebelum digunakan encerkan toksin tantang dengan pengencer yang sesuai hingga diperoleh larutan toksin tantang yang mengandung 50 kali dosis paralitik 50% per ml. Encerkan sebagian larutan toksin tantang 16 kali, 50 kali dan 160 kali, menggunakan pengencer yang sama.

*Prosedur* Buat seri pengenceran sediaan uji dan sediaan baku dalam larutan *natrium klorida P* 0,9% masing-masing 3 pengenceran dengan kelipatan tidak lebih dari 2,5. Konsentrasi dipilih sedemikian sehingga bila sejumlah 1 ml konsentrasi tengah disuntikkan secara subkutan pada marmut, akan melindungi lebih kurang 50% hewan uji terhadap efek paralitik dari sejumlah tertentu toksin tetanus yang disuntikkan secara subkutan. Alokasikan tiap enceran pada masing-masing kelompok marmut yang terdiri dari 16 ekor. Suntikkan secara subkutan 1 ml tiap enceran pada tiap marmut dalam masing-masing kelompok yang dialokasikan. Setelah 28 hari, suntikkan secara subkutan 1 ml larutan toksin tantang yang mengandung 50 kali dosis paralitik 50% pada tiap marmut dalam 6 kelompok yang terdiri dari 16 ekor. Alokasikan larutan toksin tantang dan tiga

pengencerannya pada masing-masing kelompok marmut yang terdiri dari 5 ekor. Suntikkan secara subkutan 1 ml larutan toksin tantang dan tiap encerannya pada tiap marmut dalam masing-masing kelompok yang dialokasikan. Setelah 5 hari hitung jumlah marmut yang tidak mengalami paralisis. Hitung potensi relatif vaksin uji terhadap potensi sediaan baku berdasarkan jumlah hewan yang tidak mengalami paralisis pada masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor, menggunakan metode statistik baku. Uji tidak absah kecuali jika dosis sediaan uji dan sediaan baku yang dapat melindungi 50% hewan uji terletak di antara dosis tertinggi dan terendah yang diberikan pada marmut, jumlah hewan yang mengalami paralisis dalam 4 kelompok marmut terdiri dari 5 ekor yang disuntik dengan larutan toksin tantang dan encerannya menunjukkan bahwa dosis tantang yang digunakan lebih kurang 50 kali dosis paralitik 50% dan analisis statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan linieritas dan kesejajaran. Pengujian dapat diulang beberapa kali; bila dilakukan beberapa kali pengujian, potensi dihitung berdasarkan semua hasil uji yang absah.

B. Dengan penyuntikkan ke mencit: Lakukan pengujian seperti tertera pada cara A dengan beberapa modifikasi.

*Hewan uji* Gunakan 6 kelompok mencit masing-masing terdiri dari 16 ekor dan 4 kelompok mencit masing-masing terdiri dari 6 ekor, dari jenis kelamin yang sama, atau jenis kelamin berbeda yang dibagi merata diantara kelompok.

*Pemilihan toksin tantang* Gunakan sediaan toksin tetanus yang mengandung tidak kurang dari 100 kali dosis paralitik 50% per ml.

*Larutan toksin tantang* Buat larutan toksin tantang yang mengandung 50 kali dosis paralitik 50% per 0,5 ml.

*Prosedur* Suntikkan enceran sediaan uji, sediaan baku dan larutan toksin tantang dan enceran larutan toksin tantang, masing-masing 0,5 ml; penyuntikkan larutan toksin tantang dan enceran larutan toksin tantang diberikan masing-masing pada kelompok mencit terdiri dari 6 ekor untuk menunjukkan keabsahan pengujian. Amati mencit selama 4 hari.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin kering diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 5 tahun sejak tanggal potensi ditetapkan.

## **VAKSIN TIFUS Typhoid Vaccine**

Vaksin Tifus adalah suspensi steril *Salmonella typhi* mati, mengandung tidak kurang dari 500 juta dan tidak lebih dari 1000 juta bakteri *Salmonella typhi* per dosis yang tidak lebih dari 1,0 ml.

Vaksin dibuat berdasarkan sistem lot benih dari galur *Salmonella typhi* yang sesuai seperti Ty 2. Vaksin berasal dari tidak lebih 3 subkultur dari lot benih yang

pada uji laboratorium dan uji klinis menunjukkan galur sesuai. Bakteri dimatikan dengan aseton, formaldehida atau fenol, atau dengan pemanasan suspensi (misalnya pada suhu 56° selama 1 jam), atau kombinasi dari dua cara terakhir.

Vaksin Tifus tersedia dalam bentuk cair atau kering yang segera digunakan setelah direkonstitusi dengan cairan steril yang sesuai. Vaksin kering dibuat dengan cara membekukeringkan hingga kandungan air sesuai untuk stabilitas vaksin. Sediaan vaksin kering tidak boleh ditambahkan fenol.

**Identifikasi** Lakukan penetapan dengan cara aglutinasi spesifik.

**Antigenisitas** Setelah disuntikkan kepada hewan uji yang peka, merangsang pembentukan aglutinin anti-O, anti-H dan pada batas tertentu aglutinin anti-Vi.

**Fenol** Vaksin tifus cair mengandung tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Bahan Tambahan dalam Vaksin dan Imunosera* <731>.

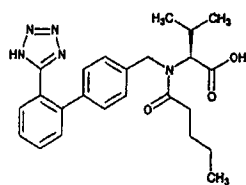
**Toksitas abnormal** <251> Memenuhi syarat uji *Toksitas Abnormal*; lakukan penetapan menggunakan dosis 0,5 ml pada masing-masing mencit dan 1 ml pada masing-masing marmut.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaksin*.

**Wadah dan penyimpanan** Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin cair diharapkan dapat bertahan selama tidak kurang dari 2 tahun. Bila disimpan pada kondisi yang ditentukan, potensi vaksin kering diharapkan dapat bertahan tidak kurang dari 5 tahun.

## VALSARTAN

### Valsartan



*N*-[*p*-(*O*-1*H*-Tetrazol-5-ilfenil)benzil]-*N*-valeril-*L*-Valin

[137862-53-4]

C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

BM 435,52

Valsartan mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Baku pembanding** *Valsartan BPF*; tidak boleh dikeringkan. *Senyawa Sejenis A Valsartan BPF*; tidak boleh dikeringkan. *Senyawa Sejenis B Valsartan BPF*;

tidak boleh dikeringkan; *Senyawa Sejenis C Valsartan BPF*; tidak boleh dikeringkan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan infra merah zat yang didispersikan dalam *minyak mineral P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Valsartan BPF*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Serapan** Ukur serapan larutan zat (1 dalam 20 ml *metanol P*) pada panjang gelombang 420 nm. Serapan dibagi ketebalan sel tidak lebih dari 0,02.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Logam berat** <371> *Metode III* Tidak lebih dari 10 bpj.

**Senyawa sejenis** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*UJI 1* (untuk senyawa sejenis A Valsartan) Tidak lebih dari 1,0%.

**Fase gerak** Buat campuran *n* heksan *P*-isopropil alkohol *P*-asam trifloroasetat *P* (85:15:0,1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Senyawa sejenis A Valsartan BPF* dan larutkan dalam *Fase gerak*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,01 mg per ml.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah *Valsartan BPF* dan *Senyawa Sejenis A Valsartan BPF*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,04 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan lebih kurang 40 ml *Fase gerak* dan sonikasi selama 5 menit. Encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 230 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L40* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 0,8 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis A valsartan dan valsartan tidak kurang dari 2,0 dan simpangan baku relatif senyawa sejenis A valsartan pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

respons puncak utama. Hitung persentase senyawa sejenis A valsartan dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Senyawa Sejenis A Valsartan BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar zat dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis A valsartan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**UJI 2** (Untuk senyawa sejenis B valsartan, senyawa sejenis C valsartan dan senyawa sejenis lainnya) Senyawa sejenis B valsartan tidak lebih dari 0,2%; Senyawa sejenis C valsartan tidak lebih dari 0,1%; Cemaran lain tidak lebih dari 0,1%; Total cemaran tidak termasuk senyawa sejenis A valsartan tidak lebih dari 0,3%.

**Fase gerak** Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Valsartan BPFi*, *Senyawa Sejenis B Valsartan BPFi* dan *Senyawa Sejenis C Valsartan BPFi*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar valsartan, senyawa sejenis B valsartan dan senyawa sejenis C valsartan masing-masing lebih kurang 0,001 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar* kecuali gunakan detektor 225 nm. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak senyawa sejenis B valsartan dan valsartan tidak kurang dari 1,8; simpangan baku relatif puncak senyawa sejenis B valsartan pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10,0% dan simpangan baku relatif puncak valsartan pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase senyawa sejenis B valsartan dan senyawa sejenis C valsartan dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Senyawa Sejenis Valsartan BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar valsartan dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing senyawa sejenis dari *Larutan uji*;  $r_s$  adalah respons puncak senyawa sejenis valsartan yang

sesuai dari *Larutan baku*. Hitung persentase masing-masing cemaran lain dalam zat dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$C_s$  adalah kadar *Valsartan BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $C_U$  adalah kadar valsartan dalam mg per ml *Larutan uji*;  $r_i$  adalah respons puncak cemaran dari *Larutan uji*;  $r_s$  adalah respons puncak valsartan dari *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril *P-asam asetat glasial P* (500:500:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Valsartan BPFi* dan larutkan dalam *Fase gerak*. Jika perlu encerkan secara bertahap dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 273 nm dan kolom 12,5 cm x 3,0 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5  $\mu$ m. Laju alir lebih kurang 0,4 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg valsartan,  $C_{24}H_{29}N_5O_3$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

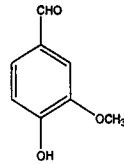
$$100C \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Valsartan BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan antara 15° dan 30°, terlindung dari panas dan kelembaban.



**VANILIN**  
**Vanillin**



*4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida* [121-33-5]  
C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> BM 152,15

Vanilin mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0 % C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur halus berbentuk jarum, putih hingga agak kuning; rasa dan bau khas. Dipengaruhi cahaya. Larutan bereaksi asam terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air; mudah larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam eter, dan dalam larutan alkali hidroksida tertentu; larut dalam gliserin dan dalam air panas.

**Baku pembanding** *Vanillin BPFi*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Vanillin BPFi*.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan (1 dalam 125.000) dalam *metanol P* menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Vanillin BPFi*.

**Jarak lebur** <1021> Antara 81° dan 83°.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,05%.

**Penetapan kadar**

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan *metanol P* sampai tanda, campur. Pipet 2 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *metanol P* sampai tanda.

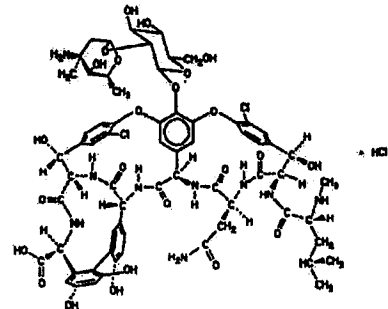
*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Vanilin BPFi*, larutkan dan encerkan secara bertahap dan kuantitatif dengan *metanol P* hingga kadar lebih kurang 8 µg per ml. Ukur serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 308 nm, terhadap blangko *metanol P*. Hitung jumlah dalam mg vanillin, C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$12,5C \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

C adalah kadar *Vanillin BPFi* dalam µg per ml *Larutan baku*; *A<sub>u</sub>* dan *A<sub>s</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**VANKOMISIN HIDROKLORIDA**  
**Vancomycin hydrochloride**



[3*S*]-[3*R*\*, 6*S*\*(*S*\*), 7*S*\*, 22*S*\*, 23*R*\*, 26*R*\*, 36*S*\*, 38*aS*\*]-3-(2-Amino-2-oksoetil)-44-[[[6-O-(3-amino-2,3,6-trideoksi-3-C-metil-α-L-likso-heksopiranosil)-β-D-glukopiranosil]oksi]-10,19-dikloro-2,3,4,5,6,7,23,24,25,26,36,37,38,38a-tetradekahidro-7,22,28,30,32-pentahidroksi-6-[[4-metil-2-(metilamino)-1-okso-pentil]amino]-2,5,24,38,39-pentaokso-22*H*-8,11:18,21-di-eteno-23,36-(iminometano)-13,16:31,35-dimeteno-1*H*,16*H*-[1,6,9]oksadiazasiklo heksadesinol[4,5-*m*][10,2,16]-benzoksadiazasiklotetrakosin-26-asam-karboksilat, monohidroklorida [1404-93-9]  
C<sub>66</sub>H<sub>75</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>9</sub>O<sub>24</sub>.HCl BM 1485,71

Vancomisin Hidroklorida adalah garam hidroklorida dari Vancomisin yang dihasilkan oleh pertumbuhan *Streptomyces orientalis* (Familia *Streptomycetaceae*), atau campuran dua atau lebih garam. Mempunyai potensi setara tidak kurang dari 900 µg vancomisin, per mg, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk bersifat mengalir bebas, putih, hampir putih atau cokelat muda dan sampai cokelat; tidak berbau dan rasa pahit.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; tidak larut dalam eter dan dalam kloroform.

**Baku pembanding** *Vancomisin Hidroklorida BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Untuk penetapan kadar, gunakan seluruh isi tanpa ditimbang. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Simpan di tempat dingin. *Vancomisin B* dengan monodeklorovancomisin *BPFi*.

**Identifikasi Spektrum** serapan inframerah zat yang tidak dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama *Vankomisin Hidroklorida BPF1*.

**pH <1071>** Antara 2,5 dan 4,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 50 mg per ml.

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 5,0%.

**Kemurnian kromatografi** Tidak lebih dari 9,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Dapar trietilamin** Campur 4 ml trietilamin P dan 2000 ml air, atur pH 3,2 dengan penambahan asam fosfat P.

**Larutan A** Buat campuran *Dapar trietilamin-asetonitril P-tetrahidrofur* P (92:7:1), saring dan awaudarakan.

**Larutan B** Buat campuran *Dapar trietilamin-asetonitril P-tetrahidrofur* P (70:29:1), saring dan awaudarakan.

**Fase gerak** Gunakan variasi campuran *Larutan A* dan *Larutan B* seperti tertera pada *Sistem kromatografi*. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Ubah perbandingan *asetonitril P* dalam *Larutan A* untuk mendapatkan waktu retensi puncak utama *vankomisin* 7,5 - 10,5 menit.

**Larutan resolusi** Timbang saksama sejumlah *Vankomisin Hidroklorida BPF1*, larutkan dalam air hingga kadar 0,5 mg per ml, panaskan pada suhu 65° selama 48 jam, dinginkan.

**Larutan uji 1** Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *Larutan A* hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml.

**Larutan uji 2** Pipet 2 ml *Larutan uji 1* ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Larutan A* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit, kromatogram diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Larutan A (%)	Larutan B (%)	Eluasi
0-12	100	0	isokratik
12-20	100 → 0	0 → 100	gradien linier
20-22	0	100	isokratik
22-23	0 → 100	100 → 0	gradien linier
23-30	100	0	isokratik

Lakukan kromatografi terhadap *Larutan resolusi*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: urutan eluasi adalah senyawa resolusi 1, *vankomisin B* dan senyawa resolusi 2; Resolusi, *R*, antara puncak senyawa resolusi 1 dan *vankomisin B* tidak kurang dari 3,0; efisiensi kolom yang dihitung dari puncak *vankomisin B* tidak kurang dari 1500 lempeng teoritis. Senyawa resolusi 2 dieluasi antara 3 menit dan 6 menit setelah *Larutan B* mulai bertambah secara linear dari 0% hingga 100%.

*Prosedur* [Catatan Apabila garis dasar pemisahan tidak dicapai, luas puncak ditetapkan oleh garis tegak lurus yang diperpanjang dari lembah antara puncak terhadap garis dasar. Puncak komponen utama dapat terbentuk "fronting shoulder" yang dinyatakan sebagai monodeklorovankomisin. "Shoulder" ini tidak dapat dihitung secara terpisah.] Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji 1* dan *Larutan uji 2* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons seluruh puncak. [Catatan Lakukan koreksi terhadap tiap puncak dalam kromatogram *Larutan uji 1* dan *Larutan uji 2* dengan mengurangi luas puncak pada waktu elusi yang sama dalam kromatogram *Larutan A*.] Hitung persentase *vankomisin B* dalam zat dengan rumus:

$$2500 \left( \frac{r_B}{25r_B + r_A} \right)$$

*r<sub>B</sub>* adalah respons puncak utama yang telah dikoreksi dari *Larutan uji 2*; *r<sub>A</sub>* adalah jumlah semua respons puncak yang telah dikoreksi kecuali puncak utama dari *Larutan uji 1*; *Vankomisin B* yang ditemukan tidak kurang dari 80,0%. Hitung persentase masing-masing puncak lain dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_{Ai}}{25r_B + r_A} \right)$$

*r<sub>Ai</sub>* adalah respons masing-masing puncak yang telah dikoreksi kecuali puncak utama dari *Larutan uji 1*.

**Monodeklorovankomisin** Tidak lebih dari 4,7%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. [Catatan *Larutan kesesuaian sistem*, *Larutan baku*, dan *Larutan uji* dimasukkan ke dalam lemari pendingin segera setelah pembuatan dan selama analisis, gunakan autosampler berpendingin. *Larutan ini stabil pada lemari pendingin selama 4 hari*.]

**Fase gerak** Larutkan 2,2 g *natrium 1-heptansulfonat P* dalam 500 ml air dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 125 ml *asetonitril P* dan 10 ml *asam asetat P* kemudian encerkan dengan air sampai tanda, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan pembilas** Buat larutan *asetonitril P* 10% dalam air, sebagai pembilas jarum dan kolom.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah *Vankomisin B* dengan *Monodeklorovankomisin BPF1* yang mengandung 50 mg *vankomisin B*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dengan air sampai tanda.

**Larutan baku** Pipet 5 ml *Larutan kesesuaian sistem* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Kadar *vankomisin B* lebih kurang 0,05 mg per ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Blangko Gunakan air.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm, autosampler dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1, pertahankan suhu kolom pada lebih kurang 60°. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Pertahankan suhu autosampler pada 5°. Lakukan kromatografi terhadap Blangko dan Larutan baku selama 90 menit, serta Larutan kesesuaian sistem dan Larutan uji selama 120 menit. [Catatan Uji ini sensitif terhadap perubahan suhu. Untuk memanasakan Fase gerak, Larutan baku dan Larutan uji, panjang selang antara injektor dan kolom tidak kurang 91 cm dan ditempatkan dalam pemanas kolom.] Lakukan kromatografi terhadap Larutan blangko dan Larutan kesesuaian sistem. Tidak boleh ada puncak pada kromatogram blangko yang mengganggu puncak vankomisin B dan monodeklorovankomisin. Waktu retensi puncak vankomisin B adalah antara 32 dan 42 menit. Perbandingan waktu retensi monodeklorovankomisin dan vankomisin B adalah 1,1 banding 1,0. Waktu retensi puncak monodeklorovankomisin pada kromatogram Larutan uji harus berada pada rentang  $\pm 3,0\%$  waktu retensi rata-rata puncak monodeklorovankomisin pada kromatogram Larutan baku. Resolusi, R, antara vankomisin B dan monodeklorovankomisin tidak kurang dari 1,5 menggunakan kromatogram dari Larutan kesesuaian sistem; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang Larutan baku tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50  $\mu$ l) Blangko, Larutan kesesuaian sistem, Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase monodeklorovankomisin dalam zat dengan rumus:

$$100P \left( \frac{C_s}{C_U} \right) \left( \frac{r_U}{r_s} \right)$$

P adalah potensi vankomisin B dalam mg per mg Vankomisin B dengan Monoklorovankomisin B PFI;  $C_s$  adalah kadar Vankomisin B dengan Monodeklorovankomisin B PFI dalam mg per ml Larutan baku;  $C_U$  adalah kadar vankomisin hidroklorida dalam mg per ml Larutan uji;  $r_U$  adalah respons puncak monodeklorovankomisin dalam Larutan uji;  $r_s$  adalah respons puncak vankomisin B dalam Larutan baku.

Penetapan kadar Lakukan penetapan seperti tertera pada Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat.

## VASELIN KUNING

### Yellow Vaseline

Vaselin Kuning adalah campuran yang dimurnikan dari hidrokarbon setengah padat yang diperoleh dari minyak bumi. Dapat mengandung penstabil yang sesuai.

Pemerian Massa seperti lemak, kekuningan hingga amber lemah; berflourensi sangat lemah walaupun setelah melebur. Dalam lapisan tipis transparan. Tidak atau hampir tidak berbau dan berasa.

Kelarutan Tidak larut dalam air; mudah larut dalam benzen, dalam karbon disulfida, dalam kloroform, dan dalam minyak terpenin; larut dalam eter, dalam heksan, dan umumnya dalam minyak lemak dan minyak atsiri; praktis tidak larut dalam etanol dingin dan etanol panas dan dalam etanol mutlak dingin.

Bobot jenis <981> Antara 0,815 dan 0,880; lakukan penetapan pada suhu 60°.

Jarak lebur <1021> Metode V Antara 38° dan 60°.

### Konsistensi

Alat Tetapkan konsistensi vaselin kuning dengan penetrometer dilengkapi pengisap dari logam bentuk kerucut mengkilap bobot 150 g, mempunyai ujung baja yang dapat dilepaskan, dengan dimensi berikut: ujung kerucut membentuk sudut 30°, diameter titik yang terpotong 0,381 $\pm$ 0,025 mm, diameter dasar ujung tip 8,38 $\pm$ 0,05 mm dan panjang ujung 14,94 $\pm$ 0,05 mm. Bagian kerucut yang tersisa mempunyai sudut 90° dengan tinggi lebih kurang 28 mm dan dasar mempunyai diameter maksimum lebih kurang 65 mm. Bejana uji terbuat dari silinder logam dengan dasar datar dengan diameter 100 $\pm$ 6 mm dan tinggi tidak kurang dari 65 mm. Alat ini terbuat dari logam tidak kurang dari 1,6 mm (16 gaus) dan dilengkapi dengan sambungan yang baik serta tutup kedap air.

Prosedur Letakkan sejumlah wadah dan vaselin kuning dalam oven dan panaskan hingga suhu 82 $\pm$ 2,5°. Tuang vaselin kuning ke dalam satu atau lebih bejana, isi hingga 6 mm dari bibir wadah. Dinginkan pada suhu 25 $\pm$ 2,5° selama waktu tidak kurang dari 16 jam, lindungi dari aliran udara. Dua jam sebelum penetapan, letakkan wadah dalam tangas air 25 $\pm$ 0,5°. Jika suhu kamar di bawah 23,5° atau di atas 26,5°, atur suhu kerucut pada 25 $\pm$ 0,5° dengan meletakkan dalam tangas air. Tanpa mengganggu permukaan senyawa yang ditetapkan, letakkan bejana pada meja penetrometer, dan rendahkan kerucut hingga ujungnya tepat menyentuh permukaan senyawa yang ditetapkan pada titik 25-38 mm dari tepi bejana. Atur pengatur pada nol dan segera lepaskan pengisap, kemudian pengisap dibiarkan bebas selama 5 detik. Kunci pengisap dan baca keseluruhan penetrasi dari skala, lakukan tiga kali atau lebih penetapan, sehingga tiap-tiap tempat tidak terjadi tumpang tindih daerah penetrasi. Jika penetrasi melebihi

20 mm, gunakan wadah terpisah dari senyawa uji untuk masing-masing penetapan. Baca penetrasi hingga mendekati 0,1 mm. Hitung rata-rata tiga kali atau lebih pembacaan dan lakukan penetapan lebih lanjut hingga keseluruhan 10 kali jika hasil tiap penetapan berbeda dari hasil rata-rata lebih dari  $\pm 3\%$  hasil rata-rata akhir penetapan tidak kurang dari 10,0 mm dan tidak lebih dari 30,0 mm, menunjukkan bilangan konsistensi antara 100 dan 300.

**Kebasaan** Masukkan 35 g zat ke dalam gelas piala yang sesuai, tambahkan 100 ml air mendidih, tutup dan letakkan di atas lempeng pemanas berpengaduk yang suhunya di jaga sama dengan titik didih air. Setelah 5 menit, biarkan fase memisah. Alirkan air yang memisah ke dalam wadah, cuci vaselin kuning dua kali, tiap kali dengan 50 ml air mendidih, dan kumpulkan air cucian menjadi satu dalam wadah. Pada kumpulan air cucian tambahkan satu tetes *fenolftalein LP* dan didihkan: larutan tidak menjadi merah muda.

**Keasaman** Jika penambahan *fenolftalein LP* pada penetapan *Kebasaan* tidak menghasilkan warna merah muda, tambahkan 0,1 ml *jingga metil LP*: tidak menghasilkan warna merah atau merah muda.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1 %; lakukan penetapan sebagai berikut: Panaskan 2 g zat dalam cawan porselen terbuka atau platina terbuka di atas api Bunsen; zat menguap tanpa memancarkan bau tajam dan pijarkan.

**Asam organik** Timbang 20,0 g zat, tambah 100 ml campuran *etanol P* yang sudah dinetralkan dan air (1 dalam 2), kocok terus menerus, dan panaskan hingga mendidih. Tambahkan 1 ml *fenolftalein LP*, dan titrasi segera menggunakan *natrium hidroksida 0,1 N LV*, dengan pengocokan kuat hingga titik akhir merah muda tajam, catat perubahan warna dalam lapisan etanol-air; tidak lebih dari 400  $\mu$ l *natrium hidroksida 0,100 N LV* yang diperlukan.

**Minyak lemak, lemak, dan resin** Ekstraksi 10 g zat dengan 50 ml *natrium hidroksida 5 N* pada suhu 100° selama 30 menit. Pisahkan lapisan air dan asamkan dengan *asam sulfat 5 N*: tidak terjadi pemisahan minyak atau bahan padat.

**Warna** Leburkan lebih kurang 10 g zat di atas tangas uap, dan tuangkan lebih kurang 5 ml cairan ke dalam tabung reaksi kaca jernih 150 mm x 15 mm, pertahankan vaselin kuning meleleh: vaselin kuning tidak lebih gelap dari pada larutan yang dibuat dengan mencampur 3,8 ml *besi(III) klorida LK* dan 1,2 ml *kobalt(II) klorida LK* dalam tabung yang sama, perbandingan keduanya dilakukan dalam pantulan cahaya dengan latar belakang putih; tabung yang berisi vaselin kuning diamati langsung dengan latar belakang putih pada sudut tertentu yang tidak memperlihatkan fluoresensi.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## VASELIN PUTIH White Vaseline

Vaselin Putih adalah campuran yang dimurnikan dari hidrokarbon setengah padat, diperoleh dari minyak bumi dan keseluruhan atau hampir keseluruhan dihilangkan warnanya. Dapat mengandung stabilisator yang sesuai.

**Pemerian Massa** seperti lemak; putih atau kekuningan pucat, massa berminyak transparan dalam lapisan tipis setelah didinginkan pada suhu 0°.

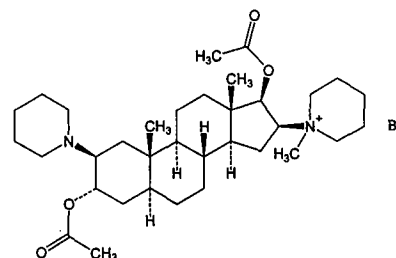
**Kelarutan** Tidak larut dalam air; sukar larut dalam etanol dingin atau panas dan dalam etanol mutlak dingin; mudah larut dalam benzen, dalam karbon disulfida, dalam kloroform; larut dalam heksan, dan dalam sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,05 %; lakukan penetapan dengan menggunakan 2 g zat dalam cawan porselen terbuka atau cawan platina terbuka di atas api bebas; menguap tanpa memancarkan bau tajam.

**Warna** Lakukan peleburan lebih kurang 10 g zat di atas tangas uap. Tuang 5 ml leburan cair ke dalam tabung uji bakteriologi terbuat dari kaca transparan 150 mm x 16 mm: leburan cair hangat tidak lebih gelap dari larutan campuran 1,6 ml *besi(III) klorida LK* dengan 3,4 ml air pada tabung sejenis, bandingkan menggunakan cahaya yang dipantulkan pada sudut sedemikian rupa dengan latar belakang putih sehingga tidak terjadi fluoresensi.

**Syarat lain** *Bobot jenis; Jarak lebur; Konsistensi; Kebasaan; Keasaman; Asam organik; Minyak lemak; Lemak dan resin; Wadah dan penyimpanan* Memenuhi syarat seperti tertera pada *Vaselin Kuning*.

## VEKURONIUM BROMIDA Vecuronium Bromide



*1-(3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihidroksi-2 $\beta$ -piperidino-5 $\alpha$ -androstan 16 $\beta$ , 5 $\alpha$ -il)-1-metilpiperidinium bromida, diasetat [50700-72-6]  
C<sub>34</sub>H<sub>57</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> BM 637,73*

Vekuronium Bromida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{34}H_{57}BrN_2O_4$  dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur putih atau putih krim.

**Kelarutan** Sukar larut dalam air dan dalam aseton; agak sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding Endotoksin BPF1**; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin. *Pankuronium Bromida BPF1*. *Vekuronium Bromida BPF1*, lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 3 jam sebelum digunakan. Zat ini bersifat sangat higroskopis, timbang dengan kondisi kelembaban relatif kurang dari 10%. Simpan dalam wadah tertutup rapat, dalam lemari pendingin. *Senyawa Sejenis A Vekuronium Bromida BPF1*. *Senyawa Sejenis B Vekuronium Bromida BPF1*. *Senyawa Sejenis C Vekuronium Bromida BPF1*. *Senyawa Sejenis F Vekuronium Bromida BPF1*.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Vekuronium Bromida BPF1*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara -16° dan -20°; lakukan penetapan menggunakan larutan 10 mg per ml dalam etanol mutlak P pada suhu 20°.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 10 unit Endotoksin FI per mg vekuronium bromida.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 2,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel* sebagai berikut:

Cemaran	Tabel	
	Waktu retensi relatif	Batas (%)
Pankuronium bromida	Lebih kurang 0,5	0,5
Senyawa sejenis F vekuronium bromida <sup>1</sup>	Lebih kurang 0,6	0,5
Senyawa sejenis C vekuronium bromida <sup>2</sup>	Lebih kurang 0,86	0,5
Vekuronium bromida	1,0	-

Senyawa sejenis A vekuronium bromida <sup>3</sup>	Lebih kurang 2,0	0,3
Senyawa sejenis B vekuronium bromida <sup>4</sup>	Lebih kurang 2,6	0,5
Senyawa yang tidak diketahui	-	0,1
Jumlah cemaran	-	1,0
<sup>1</sup> 3-Deasetil vekurinium bromida; (Piperidinium,1-[(2β,3α,5α,16β,17β)-17-asetiloksi-3-hidroksi-2-(1-piperidinil) androstan-16-il]-1-metil bromida)		
<sup>2</sup> 3,17-Bis deasetil vekurinium bromida; (Piperidinium,1-[(2β,3α,5α,16β,17β)-3,17-dihidroksi-2-(1-piperidinil) androstan-16-il]-1-metil bromida)		
<sup>3</sup> Dipiperidino diol diasetat; (3α,17β-asetil-oksi-2β,16β-bispiperidinil-5α-androstan)		
<sup>4</sup> 17-deasetil vekurinium bromida; (Piperidinium,1-[(2β,3α,5α,16β,17β)-3-asetiloksi-17-hidroksi-2-(1-piperidinil) androstan-16-il]-1-metil bromida)		

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan regenerasi penekan kation* Buat larutan *tetrautilamonium hidroksida* 0,02 M.

*Fase gerak* Masukkan 1500 ml air, 250 ml metanol P, 45 ml tetrahidrofuran P dan 1 ml asam klorida P ke dalam labu tentukur 2000-ml. Biarkan pada suhu ruang selama beberapa menit dan encerkan dengan air sampai tanda. Campur, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. [Catatan Hindari penguapan tetrahidrofuran selama proses awaudara.]

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Vekuronium Bromida BPF1*, larutkan dalam asam klorida 0,0025 N, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar masing-masing lebih kurang 5 µg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah *Vekuronium Bromida BPF1*, *Pankuronium Bromida BPF1*, *Senyawa sejenis A Vekuronium Bromida BPF1*, *Senyawa sejenis B Vekuronium Bromida BPF1*, *Senyawa sejenis C Vekuronium Bromida BPF1*, *Senyawa sejenis F Vekuronium Bromida BPF1*, dalam asam klorida 0,0025 N, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap hingga kadar masing-masing lebih kurang 5 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 0,5 ml *asetonitril* P, sonikasi untuk membantu kelarutan dan encerkan dengan asam klorida 0,0025 N sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor konduktivitas, penekan kation 4 mm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi LI. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Laju alir untuk penekan kation lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif tertera pada *Tabel*; perbandingan tinggi puncak senyawa sejenis F vekuronium bromida terhadap tinggi lembah antara puncak senyawa sejenis F vekuronium bromida dan pankuronium bromida tidak kurang dari 2,0; simpangan

baku relatif masing-masing komponen pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 10,0%. [Catatan Sistem memerlukan kesetimbangan selama 4 jam.]

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 25 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase dari masing-masing senyawa sejenis vekuronium bromida dalam zat dengan rumus:

$$2500 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

C adalah kadar masing-masing komponen dalam mg per ml Larutan kesesuaian sistem; W adalah bobot zat uji dalam mg Larutan uji;  $r_i$  adalah respons puncak masing-masing senyawa sejenis dalam Larutan uji dan  $r_s$  adalah respons puncak vekuronium bromida dalam Larutan baku. [Catatan Gunakan luas puncak vekuronium bromida dalam Larutan baku sebagai  $r_s$  untuk menghitung cemaran yang tidak diketahui.]

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan A Timbang 8 g natrium perklorat P, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dalam 6 ml air, encerkan dengan asetonitril P sampai tanda, saring dan awaudarakan.

Larutan B Timbang 3,2 g amonium klorida P, masukkan ke dalam labu tentukur 2000-ml, larutkan dalam 16 ml amonium hidroksida LP, encerkan dengan metanol P sampai tanda, saring dan awaudarakan. [Catatan Hindari awaudara berlebihan untuk mencegah hilangnya amonium hidroksida.]

Fase gerak Buat campuran Larutan A-Larutan B (3:2). Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Pengencer Pipet 1 ml asam klorida 1 N ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan asetonitril P sampai tanda.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Vekuronium Bromida BPF1, larutkan dan encerkan dengan Pengencer hingga kadar lebih kurang 0,5 mg per ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan Pengencer sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 215 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L3 dengan ukuran partikel 5 µm, pertahankan suhu kolom pada 40°. Laju alir lebih kurang 0,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku dan rekam kromatogram, ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi kolom tidak kurang dari 5000 lempeng teoritis dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama.

Hitung jumlah dalam mg vekuronium bromida,  $C_{34}H_{57}BrN_2O_4$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

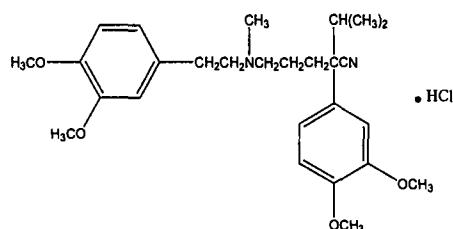
$$100 C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Vekuronium Bromida BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, pada suhu ruang.

## VERAPAMIL HIDROKLORIDA

### Verapamil Hydrochloride



(±)-5-[[3,4-Dimetoksifenetil]metilamino]-2-(3,4-dimetoksifenil)-2-isopropilvaleronitril monohidroklorida [152-11-4]

$C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$

BM 491,07

Verapamil Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih atau hampir putih; praktis tidak berbau; rasa pahit.

**Kelarutan** Mudah larut dalam kloroform; larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam eter.

**Baku pembanding** Verapamil Hidroklorida BPF1; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Senyawa Sejenis B Verapamil Hidroklorida BPF1 [Benzenasetonitril, α-[2-[[2-(3,4-dimetoksifenil)etil]metilamino]etil]3,4-dimetoksi-α-(1-metiletil)-monohidroklorida] BPF1, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Verapamil Hidroklorida BPFi.

B. Waktu retensi puncak utama verapamil hidroklorida yang diperoleh dari kromatogram Larutan uji sesuai dengan yang diperoleh dari Larutan baku pada uji Kemurnian kromatografi.

C. Menunjukkan reaksi Klorida cara A, B dan C seperti tertera pada Uji identifikasi umum <291>.

pH <1071> Antara 4,5 dan 6,5; lakukan penetapan menggunakan larutan yang dibuat dengan pemanasan hati-hati, mengandung 50 mg per ml.

Jarak lebur <1021> Antara 140° dan 144°.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

Sisa pemijaran <301> Tidak lebih dari 0,1%.

**Kemurnian kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Campuran pelarut mengandung air* Buat larutan natrium asetat 0,015 N yang mengandung lebih kurang 33 ml asam asetat glasial P per liter.

*Fase gerak* Buat Campuran pelarut mengandung air-asetonitril P-2-aminoheptan P (70:30:0,5), saring dan awadarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Verapamil Hidroklorida BPFi, larutkan dalam Fase gerak, jika perlu encerkan secara bertahap dan kuantitatif dengan Fase gerak hingga kadar Larutan baku A dan Larutan baku B berturut-turut lebih kurang 5,6 µg dan 9,4 µg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam Fase gerak hingga kadar lebih kurang 1,9 mg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah Verapamil Hidroklorida BPFi dan Senyawa sejenis B Verapamil Hidroklorida BPFi dalam Fase gerak hingga kadar berturut-turut lebih kurang 1,9 mg per ml dan 1,5 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 278 nm dan kolom 12,5 cm x 4,6 mm sampai 15 cm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 0,9 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif senyawa sejenis B verapamil hidroklorida dan verapamil berturut-turut lebih kurang 0,88 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak senyawa sejenis B verapamil hidroklorida dan verapamil

tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku A, Larutan baku B dan Larutan uji ke dalam kromatograf, dan biarkan Larutan uji tereluasi selama tidak kurang dari empat kali waktu retensi verapamil, rekam kromatogram, dan ukur semua respons puncak. Jumlah semua respons puncak Larutan uji kecuali puncak verapamil tidak lebih besar dari respons puncak verapamil dari Larutan baku B (0,5%) dan tidak satupun respons puncak lebih besar dari respons puncak verapamil yang diperoleh dari Larutan baku A (0,3%).

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, larutkan dalam 40 ml asam asetat glasial P, tambahkan 10 ml raksa(II) asetat LP dan 5 ml anhidrida asetat P. Titrasi dengan asam perklorat 0,10 N LV; tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam perklorat 0,10 N setara dengan 49,11 mg C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. HCl

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan pada suhu 25°, masih diperbolehkan pada suhu antara 15° dan 30°.

### INJEKSI VERAPAMIL HIDROKLORIDA Verapamil Hydrochloride Injection

Injeksi Verapamil Hidroklorida adalah larutan steril Verapamil Hidroklorida dalam Air untuk Injeksi. Mengandung verapamil hidroklorida, C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.HCl, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Verapamil Hidroklorida BPFi; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa sejenis A* Verapamil Hidroklorida BPFi [3,4-dimetoksi-α-[3-(metilamino)propil]-α-(1-metiletil)-benzenasetonitril-monohidroklorida] (C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HCl BM 326,87), tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa sejenis B* Verapamil Hidroklorida BPFi; [Benzenasetonitril, α-[2-[[2-(3,4-dimetoksifenil) etil]metilamino]etil]3,4-dimetoksi-α-(1-metiletil) monohidroklorida] (C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.HCl BM 477,05); tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa sejenis E* Verapamil Hidroklorida BPFi. *Senyawa sejenis F* Verapamil Hidroklorida BPFi. *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

### Identifikasi

A. Memenuhi syarat *Identifikasi Basa Nitrogen Organik* <261>; lakukan penetapan menggunakan sejumlah volume injeksi setara dengan 100 mg verapamil hidroklorida, menggunakan kloroform P sebagai pengganti karbon disulfida P dan sel 0,1 mm sebagai pengganti sel 1-mm.

B. Waktu retensi puncak utama yang diperoleh dari kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan kromatogram *Larutan baku* pada *Penetapan kadar*.

C. Menunjukkan reaksi *Klorida* cara A,B dan C seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 16,7 unit Endotoksin FI per mg.

**pH** <1071> Antara 4,0 dan 6,5.

**Bahan partikulat** <751> Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi volume kecil*.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Injeksi*.

**Senyawa sejenis** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,3% dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Campuran pelarut mengandung air, Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, Larutan uji dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Verapamil Hidroklorida BPFi*, *Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida BPFi*, *Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida BPFi*, dan *Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida BPFi* larutkan dalam *Fase gerak* hingga kadar *Verapamil Hidroklorida BPFi* 2,5 mg per ml; kadar *Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida BPFi*, *Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida BPFi*, dan *Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida BPFi* masing-masing 0,0075 mg per ml.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, biarkan *Larutan uji* tereluasi selama tidak kurang dari empat kali waktu retensi verapamil hidroklorida, dan ukur semua respon puncak yang terjadi. Waktu retensi senyawa sejenis F verapamil hidroklorida, senyawa sejenis A verapamil hidroklorida, senyawa sejenis E verapamil hidroklorida dan verapamil hidroklorida berturut-turut lebih kurang 0,4;0,5; 0,7 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg, masing-masing cemaran per ml injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$C = \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar dalam mg per ml *Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida*, *Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida*, dan *Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida* dalam mg per ml *Larutan baku* [*Catatan Untuk menghitung cemaran lain, C adalah kadar dalam mg per ml Verapamil Hidroklorida BPFi dalam Larutan baku*]; L adalah jumlah verapamil hidroklorida dalam mg per ml yang tertera pada etiket; D adalah kadar verapamil hidroklorida dalam mg per ml *Larutan uji*, berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket per ml dan besarnya faktor pengenceran;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak cemaran dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Campuran pelarut mengandung air* Buat larutan *natrium asetat* 0,015 N yang mengandung lebih kurang 33 ml *asam asetat glasial P* per liter.

*Fase gerak* Buat campuran *Campuran pelarut mengandung air-asetonitril P-2 aminoheptan P* (70:30:0,5), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Verapamil Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *Fase gerak* hingga diperoleh kadar lebih kurang 2,5 mg per ml.

*Larutan uji* Pipet sejumlah volume injeksi, encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar verapamil hidroklorida tidak lebih dari 2,5 mg per ml.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah *Verapamil Hidroklorida BPFi* dan *Senyawa Sejenis B Verapamil Hidroklorida BPFi* dalam *Fase gerak* hingga kadar berturut-turut lebih kurang 1,9 mg per ml dan 1,5 mg per ml.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 278 nm dan kolom 12,5 cm x 4,6 mm sampai 15 cm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 0,9 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis B verapamil hidroklorida dan verapamil berturut-turut lebih kurang 0,88 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak senyawa sejenis B verapamil hidroklorida dan verapamil tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, dan biarkan *Larutan uji* tereluasi selama tidak kurang dari empat kali waktu retensi verapamil. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg verapamil hidroklorida,  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$ , dalam tiap ml injeksi yang digunakan, dengan rumus:



$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Verapamil Hidroklorida BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; L adalah jumlah verapamil hidroklorida dalam mg per ml yang tertera pada etiket; D adalah kadar verapamil hidroklorida dalam mg per ml Larutan uji, berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket per ml dan besarnya faktor pengenceran;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak verapamil hidroklorida dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah dosis tunggal, sebaiknya dari kaca Tipe I, terlindung cahaya.

### TABLET VERAPAMIL HIDROKLORIDA Verapamil Hydrochloride Tablet

Tablet Verapamil Hidroklorida mengandung Verapamil Hidroklorida,  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Verapamil Hidroklorida BPF1;** lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida BPF1* [3,4-dimetoksi- $\alpha$ -[3-(metilamino)propil]- $\alpha$ -(1-metiletil)-benzenasetonitril monohidroklorida] ( $C_{17}H_{26}N_2O_2.HCl$  BM 326,87), tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa sejenis B Verapamil Hidroklorida BPF1;* [Benzenasetonitril, $\alpha$ -[2-[[2-(3,4-dimetoksifenil)etil] metilamino]etil]3,4-dimetoksi- $\alpha$ -(1-metiletil) monohidroklorida] ( $C_{26}H_{36}N_2O_4.HCl$  BM 477,05); tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida BPF1.* *Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida BPF1.*

#### Identifikasi

A. Masukkan sejumlah serbuk tablet, setara dengan lebih kurang 25 mg verapamil hidroklorida, ke dalam corong pisah. Tambahkan 25 ml air, kocok secara mekanik selama 30 menit. Tambahkan 1 ml natrium hidroksida 1 N dan ekstraksi dengan 25 ml kloroform P, kocok secara mekanik selama 10 menit. Saring ekstrak kloroform melalui kertas saring yang berisi natrium sulfat anhidrat P. Gerus ekstrak kloroform dengan 400 mg kalium bromida P dan uapkan hingga kering. Keringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam: spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Verapamil Hidroklorida BPF1.

B. Waktu retensi puncak utama yang diperoleh dari kromatogram Larutan uji sesuai dengan kromatogram Larutan baku pada Penetapan kadar.

#### Disolusi <1231>

Media disolusi: 900 ml asam klorida 0,01 N

Alat tipe 2: 50 rpm

Waktu: 30 menit

Prosedur Lakukan penetapan jumlah  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$  yang terlarut dengan mengukur serapan alikuot, jika perlu diencerkan dengan Media disolusi, dan serapan larutan baku Verapamil Hidroklorida BPF1 dalam media yang sama pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 278 nm dan 300 nm.

Toleransi Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q), verapamil hidroklorida,  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$ , dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

Prosedur untuk keseragaman kandungan

Larutan uji Masukkan satu tablet ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 50 ml asam klorida 0,01 N dan panaskan di atas tangas uap selama lebih kurang 50 menit, kemudian sonikasi larutan panas selama lebih kurang 10 menit, diinginkan. Encerkan dengan asam klorida 0,01 N sampai tanda, campur dan saring. Encerkan sejumlah filtrat yang diukur saksama dengan asam klorida 0,01 N hingga kadar lebih kurang 48  $\mu g$  per ml.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Verapamil Hidroklorida BPF1, larutkan dalam asam klorida 0,01 N hingga kadar lebih kurang 48  $\mu g$  per ml.

Prosedur Ukur serapan Larutan uji dan Larutan baku pada panjang gelombang serapan maksimum 278 nm dan serapan Larutan uji pada panjang gelombang 300 nm terhadap blangko asam klorida 0,01 N. Hitung jumlah dalam mg verapamil,  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$ , dalam tablet dengan rumus:

$$\left( \frac{TC}{TD} \right) \left( \frac{A_U}{A_S} \right)$$

T adalah jumlah dalam mg verapamil hidroklorida dalam tablet yang tertera dalam etiket; C adalah kadar Verapamil Hidroklorida BPF1 dalam  $\mu g$  per ml Larutan baku; D adalah kadar verapamil hidroklorida dalam  $\mu g$  per ml Larutan uji berdasarkan jumlah yang tertera pada etiket dan besarnya faktor pengenceran;  $A_U$  adalah perbedaan serapan Larutan uji pada panjang gelombang 278 nm dan 300 nm;  $A_S$  adalah serapan Larutan baku pada panjang gelombang 278 nm.

Senyawa sejenis Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,3% dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Campuran pelarut mengandung air, Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, Larutan uji, dan Sistem

kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Verapamil Hidroklorida BPF1, Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida BPF1, Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida BPF1, dan Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida BPF1, larutkan dalam Fase gerak hingga kadar Verapamil Hidroklorida BPF1 lebih kurang 1,6 mg per ml; kadar Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida BPF1, Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida BPF1, dan Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida BPF1 masing-masing lebih kurang 0,0048 mg per ml.

Larutan uji Gunakan seperti pada Larutan uji dalam Penetapan kadar.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, biarkan Larutan uji tereluasi selama tidak kurang dari empat kali waktu retensi verapamil hidroklorida, dan ukur semua respons puncak. [Catatan Waktu retensi Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida, Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida, Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida dan verapamil hidroklorida berturut-turut lebih kurang 0,4; 0,5; 0,7 dan 1,0.] Hitung jumlah mg masing-masing cemaran dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$25C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Senyawa sejenis A Verapamil Hidroklorida, Senyawa sejenis E Verapamil Hidroklorida, dan Senyawa sejenis F Verapamil Hidroklorida dalam mg per ml Larutan baku [Catatan Untuk menghitung kadar cemaran lain, C adalah kadar dalam mg per ml Verapamil Hidroklorida BPF1 dalam Larutan baku]; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak cemaran dalam Larutan uji dan Larutan baku.

**Penetapan kadar**

Campuran pelarut mengandung air Buat larutan natrium asetat 0,015 N yang mengandung lebih kurang 33 ml asam asetat glasial P per liter.

Fase gerak Buat campuran Campuran pelarut mengandung air-asetonitril P-2-aminoheptan P (70:30:0,5), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah Verapamil Hidroklorida BPF1, larutkan dalam Fase gerak hingga kadar lebih kurang 1,6 mg per ml.

Larutan uji Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 40 mg verapamil hidroklorida, masukkan ke dalam tabung sentrifuga bersumbat, tambahkan 25 ml Fase gerak. Kocok selama 15 menit menggunakan pengocok mekanik, sentrifus dan jika perlu saring.

Larutan kesesuaian sistem Larutkan sejumlah Verapamil Hidroklorida BPF1 dan Senyawa Sejenis B Verapamil Hidroklorida BPF1 dalam Fase gerak hingga kadar berturut-turut lebih kurang 1,9 mg per ml dan 1,5 mg per ml.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 278 nm dan kolom 12,5 cm x 4,6 mm sampai 15 cm berisi bahan pengisi LI. Laju alir lebih kurang 0,9 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif senyawa sejenis B verapamil hidroklorida dan verapamil berturut-turut lebih kurang 0,88 dan 1,0; resolusi, R, antara puncak senyawa sejenis B verapamil hidroklorida dan verapamil tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

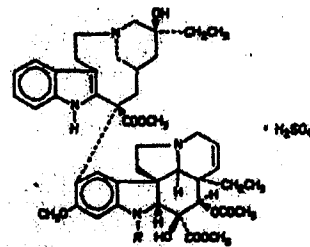
Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, dan biarkan Larutan uji tereluasi selama tidak kurang dari empat kali waktu retensi verapamil. Ukur semua respons puncak yang terjadi. Hitung jumlah dalam mg verapamil hidroklorida, C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.HCl, dalam bagian serbuk yang digunakan, dengan rumus:

$$25C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Verapamil Hidroklorida BPF1 dalam mg per ml Larutan baku; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak verapamil hidroklorida dalam Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**VINBLASTIN SULFAT**  
Vinblastine Sulfate



Garam vinkaleukoblastin sulfat (1:1) [143-67-9]  
C<sub>46</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> BM 909,06

Vinblastin Sulfat mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>46</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> lakukan koreksi terhadap susut bobotnya.

[Perhatian Perlakukan vinblastin sulfat dengan hati-hati karena merupakan zat sitotoksik yang kuat.]

**Pemerian** Serbuk hablur atau amorf; putih atau agak kuning; tidak berbau; higroskopik.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air.

**Baku pembanding** *Vinblastin Sulfat BPFi*; Sebelum ampul dibuka, diamlkan pada suhu ruang. Setelah ampul dibuka, diamlkan selama 30 menit agar disamakan dengan kelembaban ruang sebelum ditimbang. Lakukan penetapan menurut *Analisis Termogravimetri* seperti tertera pada *Analisis Termal <741>*, menggunakan sejumlah 10 mg baku pembanding yang disetimbangkan dengan kelembaban ruang. Panaskan mulai dari suhu ruang hingga 200° dengan kecepatan 5° per menit dan dialiri gas nitrogen P 40 ml per menit. Dari termogram tentukan jumlah kehilangan bobot antara suhu ruang dan sebuah titik pada plato sebelum terjadi peruraian (pada suhu lebih kurang 160°). Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya dan di tempat dingin. [Catatan Buat pengenceran dengan air pada waktu akan digunakan; larutan untuk penetapan kadar disimpan dalam lemari pendingin dan harus digunakan dalam 7 hari.] *Vinkristin Sulfat BPFi* [Catatan Tidak diperlukan penetapan Susut pengeringan.] *Endotoksin BPFi*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi semua isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dalam hampa udara pada 60° selama 16 jam dan didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Vinblastin Sulfat BPFi*.

B. Larutkan (1 dalam 10) menunjukkan reaksi Sulfat cara A, B dan C seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**pH** <1071> Antara 3,5 dan 5,0; lakukan penetapan dengan melarutkan 3 mg zat dalam 2 ml air.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 15,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Analisis Termal <741>*. [Catatan Pada prosedur ini, lakukan penimbangan dengan cepat dan sesedikit mungkin pemaparan terhadap udara.] Tentukan persentase zat mudah menguap secara termogravimetri menggunakan alat yang telah dikalibrasi. Timbang saksama lebih kurang 10 mg, panaskan mulai suhu ruang hingga 200° dengan kecepatan 5° per menit, dengan dialiri gas nitrogen P 40 ml per menit. Dari termogram tentukan jumlah kehilangan bobot antara suhu ruang dan sebuah titik pada plato sebelum terjadi peruraian (lebih kurang pada suhu 160°).

**Senyawa sejenis** Masing-masing senyawa sejenis tidak lebih dari 1,0%; jumlah semua senyawa sejenis tidak lebih dari 3,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak, Larutan kesesuaian sistem, dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Enceran larutan uji* Pipet 1 ml *Larutan uji* seperti tertera pada *Penetapan kadar* ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 200 µl) *Larutan uji* dan *Enceran larutan uji* ke dalam kromatograf. Ukur respon senyawa sejenis yang tampak setelah puncak pelarut dari *Larutan uji*,  $r_i$ . Hitung persentase jumlah semua senyawa sejenis dengan rumus:

$$\frac{100r_T}{(r_T + 25r_V)}$$

$r_T$  adalah jumlah semua respons;  $r_V$  adalah respons puncak vinblastin dari *Enceran larutan uji*. Hitung persentase masing-masing senyawa sejenis dengan rumus:

$$\frac{100r_i}{(r_T + 25r_V)}$$

**Sterilitas** <71> Jika pada etiket tertera vinblastin sulfat steril, memenuhi syarat.

**Endotoksin bakteri** <201> Jika pada etiket tertera vinblastin sulfat steril atau harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi, tidak lebih dari 10,0 unit Endotoksin FI per mg vinblastin sulfat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campur 14 ml dietilamin P dengan 986 ml air, atur hingga pH 7,5 menggunakan asam fosfat P (*Larutan A*). Campur 200 ml asetonitril P dan 800 ml metanol P (*Larutan B*). Campur 380 ml *Larutan A* dan 620 ml *Larutan B*, saring melalui saringan berpori 0,5 µm dan awaudarkan pada hampa udara. Perbandingan *Larutan A* dan *Larutan B* dapat bervariasi untuk memenuhi persyaratan kesesuaian sistem dan untuk mendapatkan waktu eluasi vinblastin sulfat yang sesuai.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Vinblastin Sulfat BPFi*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 0,4 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 4 mg zat, masukan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan kesesuaian sistem* Larutkan sejumlah *Vinkristin Sulfat BPFi* dalam *Larutan baku* hingga kadar

vinkristin sulfat dan vinblastin sulfat masing-masing lebih kurang 0,4 mg per ml.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 262 nm, pra kolom berisi silika gel berpori yang dipasang antara pompa injektor dan kolom analitik 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit, hingga diperoleh resolusi dan waktu eluasi yang sesuai. Lakukan penyuntikan ulang *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: Simpangan baku relatif tidak lebih dari 2,0%. Dengan cara yang sama, lakukan kromatografi menggunakan 20 µl *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara vinkristin dan vinblastin tidak kurang dari 4,0. [*Catatan untuk kolom tertentu, resolusi dapat ditingkatkan dengan bertambahnya jumlah Larutan A dalam Fase gerak.*]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg vinblastin sulfat,  $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$10C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Vinblastin Sulfat BPFi* yang telah dikoreksi terhadap susut bobotnya dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, dalam lemari pembeku.

**Penandaan** Jika digunakan untuk sediaan injeksi, etiket menyatakan steril atau harus diproses lebih lanjut untuk pembuatan sediaan injeksi.

## VINKRISTIN SULFAT

### Vincristine Sulfate

$C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$  BM 923,04  
*Garam leurokristin sulfat (1:1) [2068-78-2]*

Vinkristin Sulfat mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%  $C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$  yang telah dikoreksi terhadap susut bobot.

[*Perhatian Penanganan vinkristin sulfat harus sangat hati-hati karena merupakan zat sitotoksik kuat.*]

**Pemerian** Serbuk hablur atau amorf, putih hingga agak kuning; tidak berbau; higroskopik.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air; larut dalam metanol; sukar larut dalam etanol.

**Baku pembanding** *Vinkristin Sulfat BPFi*; Simpan ampul yang belum dibuka di tempat dingin. Setelah ampul dibuka, diamkan selama 30 menit untuk disamakan dengan kelembaban ruang sebelum ditimbang. Panaskan zat dengan cara *Analisis Termogravimetri* seperti tertera pada *Analisis Termal <741>*, menggunakan 10 mg zat, pada suhu antara suhu ruang dan 200°, kenaikan suhu 5° per menit dengan aliran gas *nitrogen P* 40 ml per menit. Dari termogram yang diperoleh tetapkan jumlah susut bobot antara suhu ruang dan satu titik pada plato sebelum terjadi penguraian (pada suhu lebih kurang 160°). Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, di tempat dingin. [*Catatan Buat larutan dalam air pada saat akan digunakan; larutan untuk pengujian yang disimpan dalam lemari pendingin dapat digunakan dalam waktu 15 hari.*] *Vinblastin Sulfat BPFi* [*Catatan Tidak diperlukan penetapan Susut Pengerinan.*]

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dalam hampa udara pada suhu 40° selama 16 jam dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Vinkristin Sulfat BPFi*.

B. *Larutan* (1 dalam 10) menunjukkan reaksi *Sulfat* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**pH <1071>** Antara 3,5 dan 4,5; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 1000).

**Susut pengerinan <1121>** Tidak lebih dari 12,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Analisis Termal <741>*. [*Catatan Pada prosedur ini, lakukan penimbangan dengan cepat dan sesedikit mungkin pemaparan terhadap udara.*] Tetapkan persentase zat mudah menguap dengan analisis termogravimetri pada alat yang telah dikalibrasi, menggunakan lebih kurang 10 mg zat yang ditimbang saksama antara suhu ruang dan 200°, kenaikan suhu 5° per menit dengan aliran gas *nitrogen P* 40 ml per menit. Dari termogram yang diperoleh tetapkan jumlah susut bobot antara suhu ruang dan suatu titik pada plato sebelum terjadi penguraian (pada suhu lebih kurang 160°).

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 1,0% untuk masing-masing senyawa sejenis dan tidak lebih dari 4,0% untuk total senyawa sejenis. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Pelarut A* Buat campuran air-*dietilamin P* (985:15), saring dan awaudarkan, atur hingga pH 7,5 menggunakan *asam fosfat P*.

*Pelarut B* Gunakan *metanol P*.

*Larutan uji* Buat seperti tertera pada *Larutan uji dalam Penetapan kadar*.

*Enceran Larutan uji* Pipet 1 ml *Larutan uji* ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Gunakan kromatograf cair kinerja tinggi seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit dengan gradien awal *Pelarut B* 62% dan *Pelarut A* 38% selama 12 menit, kemudian diubah dengan menaikkan proporsi *Pelarut B* 2% per menit, sehingga setelah 15 menit mencapai 92% dalam campuran; kemudian kurangi proporsi *Pelarut B* dengan kecepatan 15% per menit, sehingga setelah 2 menit mencapai 62% dalam campuran, dan pertahankan perbandingan ini selama 5 menit.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 200 µl) *Larutan uji* dan *Enceran larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respon puncak ( $r_i$ ) dari masing-masing senyawa sejenis yang tampak setelah puncak pelarut pada kromatogram *Larutan uji*. Hitung persentase total seluruh senyawa sejenis dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_i + 25r_v} \right)$$

$r_i$  adalah jumlah respons puncak masing masing cemaran ( $r_i$ );  $r_v$  adalah respons puncak vinkristin dalam *Enceran larutan uji*. Hitung persentase masing-masing senyawa sejenis dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_i + 25r_v} \right)$$

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan dietilamin** Buat campuran 5 ml dietilamin *P* dengan 295 ml air, atur pH hingga 7,5 dengan asam fosfat *P*.

**Fase gerak** Buat campuran metanol *P* dan *Larutan dietilamin* (70:30), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Vinkristin Sulfat BPFi*, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml.

**Larutan uji** Diamkan sejumlah zat selama 30 menit agar sesuai dengan kelembaban ruang. Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Lakukan penetapan susut bobot menurut *Vinkristin Sulfat BPFi* seperti tertera pada *Baku Pemanding*.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama lebih kurang 5 mg *Vinkristin Sulfat BPFi* dan 5 mg *Vinblastin Sulfat BPFi*, masukan ke dalam labu tentukur 5-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 297 nm, pra-kolom berisi silika gel berpori, kolom pelindung 2 cm hingga 5 cm

berisi bahan pengisi *L1* dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L7*. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: faktor resolusi antara vinkristin sulfat dan vinblastin sulfat tidak kurang dari 4,0. [Catatan Untuk kolom tertentu, resolusi dapat naik dengan bertambahnya proporsi air dalam Fase gerak.] Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

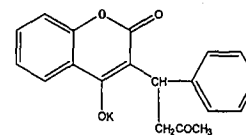
**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg vinkristin,  $C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$ , dalam zat yang digunakan yang sudah dikoreksi terhadap susut bobot dengan rumus:

$$10C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

$C$  adalah kadar *Vinkristin Sulfat BPFi* yang telah dikoreksi terhadap susut bobot dalam mg per ml *Larutan baku*;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya, dalam lemari pembeku.

## WARFARIN KALIUM Warfarin Pottasium



*Garam kalium 3-( $\alpha$ -asetonil benzil)-4-hidroksikumarin*  
[81-81-2]  
 $C_{19}H_{15}KO_4$  BM 346,42

Warfarin Kalium mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{19}H_{15}KO_4$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur, putih; tidak berbau; rasa agak pahit; terpengaruh oleh cahaya.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam eter.

### Identifikasi

A. Larutkan 100 mg zat dalam 25 ml air, tambahkan 3 tetes asam klorida encer *P*, kumpulkan endapan yang terbentuk, cuci 4 kali, tiap kali dengan 5 ml air,

keringkan pada suhu 105° selama 1 jam; senyawa melebur pada suhu antara 157° dan 167°.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan dalam kalium hidroksida 0,02 N (1 dalam 100.000) menunjukkan maksimum antara 306 nm dan 310 nm dan minimum antara 258 nm dan 262 nm. Spektrum serapan zat uji dalam asam klorida 0,02 N (1 dalam 100.000) menunjukkan maksimum antara 281 nm dan 285 nm serta antara 303 nm dan 307 nm dan minimum antara 243 nm dan 247 nm.

C. Filtrat yang diperoleh pada penetapan A menunjukkan reaksi Kalium seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>.

**pH** <1071> Antara 7,2 dan 8,3; lakukan penetapan menggunakan larutan 1,0 g zat dalam 100 ml air.

**Kejernihan dan warna larutan** Larutkan 500 mg zat dalam 10 ml air: larutan jernih dan tidak berwarna.

**Senyawa alkali berwarna** Lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 1,0 g zat dalam larutan natrium hidroksida P (1 dalam 20) hingga 10,0 ml, dan ukur serapan pada panjang gelombang 385 nm dalam waktu tidak lebih dari 15 menit menggunakan larutan natrium hidroksida P (1 dalam 20) sebagai blangko. Serapan tidak lebih dari 0,20.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 10,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam menggunakan 1 g.

**Sisa pemijaran** <301> Antara 24,3% dan 25,7%; lakukan pemijaran pada suhu 700°, menggunakan 400 mg zat yang telah dikeringkan.

**Logam berat** <371> Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 2,0 g zat dalam 30 ml etanol P, tambahkan 2 ml asam asetat encer P dan etanol P hingga 50 ml. Sebagai larutan pembanding gunakan 2,0 ml Larutan baku timbal, yang ditambah 2 ml asam asetat encer P dan etanol P hingga 50 ml.

**Arsen** <321> Metode III Tidak lebih dari 2 bpj; lakukan penetapan dengan alat B, menggunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat yang telah dikeringkan, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan kalium hidroksida 0,02 N sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini, tambahkan larutan kalium hidroksida 0,02 N hingga 1000,0 ml. Ukur serapan larutan (A) pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 308 nm. Hitung jumlah dalam mg warfarin kalium, C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>KO<sub>4</sub>, dengan rumus:

$$100.000 \left( \frac{A}{405} \right)$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## WARFARIN NATRIUM Warfarin Sodium

Garam natrium 3-(*α*-asetonilbenzil)-  
4-hidroksikumarin [129-06-6]  
C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NaO<sub>4</sub>

BM 330,31

Warfarin Natrium adalah zat padat amorf atau klatrat hablur. Bentuk klatrat terutama terdiri dari warfarin natrium dan isopropil alkohol, dalam perbandingan molekul (2:1); mengandung tidak kurang dari 8,0% dan tidak lebih dari 8,5% isopropil alkohol. Warfarin Natrium mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NaO<sub>4</sub>, dihitung terhadap zat anhidrat untuk bentuk amorf atau terhadap zat anhidrat dan bebas isopropil alkohol untuk bentuk hablur.

**Pemerian** Bentuk amorf atau serbuk hablur; putih; tidak berbau; agak pahit. Warna berubah oleh pengaruh cahaya.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam etanol; sangat sukar larut dalam kloroform dan eter.

**Baku pembanding** Warfarin BPF<sub>I</sub>, merupakan bentuk asam dari Warfarin. Lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Senyawa Sejenis A Warfarin BPF<sub>I</sub>; [3-(*o*-Hidroksifenil)-5-fenil-2-sikloheksen-1-on] (C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub> BM 264,33). Simpan dalam wadah tertutup rapat.

### Identifikasi

A. Larutkan lebih kurang 100 mg zat dalam 25 ml air, atur pH hingga kurang dari 3,0 dengan asam klorida P, gunakan indikator kertas pH. Aduk campuran dan biarkan terbentuk endapan. Saring campuran dan simpan filtrat untuk uji Identifikasi C. Cuci endapan empat kali dengan 5 ml air. Lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas fosfor pentoksida P selama 4 jam. Gunakan warfarin yang diperoleh sebagai zat uji. Spektrum serapan inframerah zat uji yang didispersikan dalam Kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Warfarin BPF<sub>I</sub>.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram dari Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang diperoleh pada Penetapan kadar.

C. Filtrat yang diperoleh dalam uji Identifikasi A menunjukkan reaksi Natrium cara A seperti tertera pada Uji identifikasi umum <291>.

**pH** <1071> Antara 7,2 dan 8,3; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 100).

**Air <1031> Metode I** Tidak lebih dari 4,5% untuk bentuk amorf; dan tidak lebih dari 0,3% untuk bentuk hablur klatrat.

**Serapan dalam larutan basa** Serapan tidak lebih dari 0,1; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama 1,25 g zat, larutkan dalam 10 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 20), saring melalui penyaring membran, ukur serapan dalam waktu 15 menit pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 385 nm menggunakan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 20) sebagai blangko.

**Logam berat <371>** Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan dengan melarutkan 4,0 g zat dalam 45 ml air, tambahkan 5 ml *asam asetat glasial P*, aduk hingga endapan menggumpal, saring dan gunakan 25 ml filtrat, jika perlu gunakan *asam asetat glasial P* untuk mengatur pH.

**Kandungan isopropil alkohol** (bentuk hablur klatrat)

*Larutan baku internal* Encerkan 2 ml larutan *n-propil alkohol P* ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan air sampai tanda.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 1,6 g *isopropil alkohol P*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml ke dalam labu tentukur 100-ml tambahkan 10,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan air sampai tanda. *Larutan baku* ini mengandung isopropil alkohol lebih kurang 1,6 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 1,85 g zat, larutkan dengan lebih kurang 50 ml air dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 10,0 ml *Larutan baku internal*, encerkan dengan air sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom 1,8 m x 4 mm berisi bahan pengisi dengan penyangga S2, dengan ukuran partikel 80 - 100 mesh. Pertahankan suhu kolom, injektor dan detektor berturut-turut pada lebih kurang 140°, 200° dan 250°. Gunakan *nitrogen P* sebagai gas pembawa, laju alir lebih kurang 40 ml per menit. Suhu kolom dapat disesuaikan sehingga kriteria kesesuaian sistem dapat dipenuhi yaitu: Resolusi, *R*, antara *n-propil alkohol* dan *isopropil alkohol* tidak kurang dari 2,0. Faktor ikutan, *T*, untuk puncak *isopropil alkohol* tidak lebih dari 1,5 dan perbandingan simpangan baku relatif dari luas *isopropil alkohol* terhadap luas *n-propil alkohol* pada lima kali penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf dan ukur respons puncak utama yang diperoleh. Hitung bobot dalam mg puncak utama. Hitung bobot dalam mg *isopropil alkohol* dalam *warfarin natrium* yang digunakan dengan rumus:

$$100C \left( \frac{R_U}{R_S} \right)$$

*C* adalah kadar *isopropil alkohol* dalam mg per ml *Larutan baku*; *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan antara luas puncak *isopropil alkohol* terhadap *n-propil alkohol* dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Kemurnian kromatografi** Masing-masing cemaran tidak lebih dari 0,3% dan jumlah semua cemaran tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Campuran pelarut** Campuran air-metanol *P* (75:25).

**Fase gerak** Buat campuran air-asetonitril *P*-*asam asetat glasial P* (68:32:1), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 24 mg *Warfarin BPF1*, dan lebih kurang 24 mg *Senyawa sejenis A Warfarin BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dengan 4 ml *natrium hidroksida 0,1 N* dan 50 ml *metanol P*. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda. Pipet 20 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 80 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Campuran pelarut* sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 260 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L10. Laju alir lebih kurang 1,5 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak *warfarin* dan *senyawa sejenis A warfarin* tidak kurang dari 3 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 5,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 50 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Waktu retensi relatif *warfarin* dan *senyawa sejenis A warfarin* berturut-turut lebih kurang 1,0 dan 1,2. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam *Warfarin Natrium* yang digunakan dengan rumus:

$$10.000 \left( \frac{C}{M} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

*C* adalah kadar *warfarin natrium* dalam mg per ml *Larutan baku*; *M* adalah jumlah *warfarin natrium* dalam mg yang digunakan dalam *Larutan uji*; *r<sub>i</sub>* adalah respons

puncak dari masing-masing cemaran, dan  $r_s$  adalah respons puncak utama warfarin dalam *Larutan uji*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Dapar pH 7,4* Masukkan 1,36 g kalium fosfat monobasa P ke dalam labu tentukur 200-ml, dan larutkan dengan 50 ml air. Tambahkan 39,1 ml natrium hidroksida 0,2 N, dan encerkan dengan air sampai tanda. Atur pH hingga  $7,4 \pm 0,1$  dengan penambahan natrium hidroksida P atau asam fosfat P.

*Fase gerak* Buat campuran metanol P-air-asam asetat glasial P (64:36:1), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Atur perbandingan bila perlu.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 94 mg Warfarin BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dalam 97,8 ml natrium hidroksida 0,1 N, tambahkan 62,5 ml kalium fosfat monobasa 0,2 M, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini dan 15 ml *Dapar pH 7,4* ke dalam labu Erlenmeyer.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, lakukan seperti tertera pada *Larutan baku*.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 280 nm dan kolom 25 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L7. Laju alir lebih kurang 1,4 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* sebanyak 5 kali penyuntikan dan rekam kromatogram. Ukur respons puncak yang dihasilkan seperti tertera pada *Prosedur*: simpangan baku relatif warfarin tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama.

Hitung jumlah dalam mg warfarin natrium,  $C_{19}H_{15}Cl_2NaO_4$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$C \left( \frac{330,31}{308,34} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

330,31 dan 308,34 berturut-turut adalah bobot molekul warfarin natrium dan warfarin; C adalah kadar Warfarin BPF1 dalam  $\mu$ g per ml *Larutan baku*;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah luas respons warfarin dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Penandaan** Etiket menunjukkan bentuk amorf atau hablur.

## TABLET WARFARIN NATRIUM Warfarin Sodium Tablet

Tablet Warfarin Natrium mengandung Warfarin Natrium,  $C_{19}H_{15}NaO_4$ , tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Warfarin BPF1**; Merupakan bentuk asam dari warfarin. Lakukan pengeringan di atas fosfor pentoksida P selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

B. Gerus sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 200 mg warfarin natrium dengan 50 ml air, sentrifus dan saring beningan. Ekstraksi dengan 50 ml eter P, pindahkan lapisan air ke dalam corong pisah kedua dan buang lapisan eter. Atur pH hingga kurang dari 3 dengan penambahan asam klorida P menggunakan kertas pH indikator, ekstraksi dengan 50 ml kloroform P. Pindahkan lapisan kloroform ke dalam corong pisah yang lain, ekstraksi dengan 50 ml larutan natrium hidroksida P (1 dalam 250) dan buang lapisan kloroform. Pindahkan lapisan air ke dalam gelas piala dan atur pH hingga kurang dari 3 dengan penambahan asam klorida P (menggunakan kertas indikator pH), untuk mengendapkan warfarin, biarkan endapan menggumpal. Saring dan cuci endapan empat kali, setiap kali dengan 5 ml air. Jika endapan tidak putih, larutkan dengan sejumlah kecil larutan natrium hidroksida P (1 dalam 250), encerkan dengan air hingga 50 ml, ulangi prosedur mulai dari "ekstraksi dengan 50 ml eter P". Keringkan warfarin yang diperoleh di atas fosfor pentoksida P dalam vakum selama 4 jam. Spektrum serapan inframerah residu yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Warfarin BPF1.

### Disolusi <1231>

*Media disolusi* : 900 ml air

*Alat tipe 2* : 50 rpm

*Waktu* : 30 menit

Lakukan penetapan jumlah warfarin natrium,  $C_{19}H_{15}NaO_4$ , yang terlarut dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah Warfarin BPF1, larutkan dalam air hingga kadar lebih kurang 0,0008 L mg per ml. L adalah jumlah dalam mg warfarin natrium dalam tablet seperti tertera pada etiket [*Catatan Gunakan sejumlah kecil natrium hidroksida 0,1 N untuk membantu kelarutan.*]

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 40  $\mu$ l) *Larutan baku* dan alikuot



yang telah disaring ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg warfarin natrium,  $C_{19}H_{15}NaO_4$ , yang terlarut dengan rumus:

$$900C \left( \frac{330,32}{308,34} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Warfarin BPFI dalam mg per ml Larutan baku; 330,32 dan 308,34 berturut-turut adalah bobot molekul warfarin natrium dan warfarin;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak warfarin dari alikuot yang telah disaring dan Larutan baku.

Toleransi Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q), warfarin natrium,  $C_{19}H_{15}NaO_4$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911>** Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Dapar pH 7,4 dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Warfarin natrium.

Campuran pelarut Campuran Dapar pH 7,4-asetonitril P (85:15).

Fase gerak Buat campuran metanol P-air-asam asetat glasial P (68:32:1). Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 62,5 mg Warfarin BPFI, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml dan larutkan dalam 78 ml natrium hidroksida 0,1 N. Tambahkan 50 ml kalium fosfat monobasa 0,2 N, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 15 ml larutan ke dalam labu tentukur 50-ml dan encerkan dengan Campuran pelarut sampai tanda.

Larutan uji Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 5 mg warfarin natrium, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 30 ml Campuran pelarut, sonikasi selama 10 menit, aduk secara mekanik selama 60 menit, encerkan dengan Campuran pelarut sampai tanda dan saring.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20  $\mu$ l) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg warfarin natrium,  $C_{19}H_{15}NaO_4$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

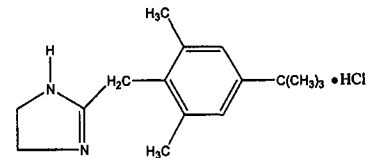
$$50C \left( \frac{330,31}{308,34} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Warfarin BPFI dalam mg per ml Larutan baku; 330,31 dan 308,34 berturut-turut adalah bobot molekul warfarin natrium dan warfarin;  $r_U$  dan  $r_S$

berturut-turut adalah respons puncak dari Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

## XILOMETAZOLIN HIDROKLORIDA Xylometazoline Hydrochloride



2-(4-tert-Butil-2,6-dimetilbenzil)-2-imidazolin monohidroklorida [1218-35-5]

$C_{16}H_{24}N_2 \cdot HCl$

BM 280,84

Xilometazolin Hidroklorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{16}H_{24}N_2 \cdot HCl$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk hablur; putih hingga hampir putih; tidak berbau. Melebur di atas suhu 300° disertai peruraian.

**Kelarutan** Larut dalam air; mudah larut dalam etanol; agak sukar larut dalam kloroform; praktis tidak larut dalam benzen dan dalam eter.

**Baku pembanding** Xilometazolin Hidroklorida BPFI; lakukan pengeringan pada 105° selama 4 jam sebelum digunakan.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam minyak mineral P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Xilometazolin Hidroklorida BPFI.

B. Harga  $R_f$  bercak utama pada kromatogram Larutan identifikasi sesuai dengan Larutan baku seperti tertera pada uji Kemurnian kromatografi.

**pH <1071>** Antara 5,0 dan 6,6; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 0,1%.

**Kemurnian kromatografi** Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Campuran methanol P-amonium hidroksida P (20:1)

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Xilometazolin Hidroklorida BPFi*, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 100 µg per ml setara dengan 0,5% cemarannya.

*Enceran larutan baku* Buat satu seri pengenceran *Larutan baku* dalam *metanol P* hingga kadar 80 µg, 60 µg, 40 µg dan 20 µg per ml berturut-turut setara dengan 0,4%, 0,3%, 0,2%, dan 0,1% cemarannya.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar 20 mg per ml.

*Larutan identifikasi* Encerkan secara kuantitatif sejumlah *Larutan uji* dengan *metanol P* hingga kadar 100 µg per ml.

*Larutan penampak bercak* Siapkan (1) larutan 500 mg kalium iodida *P* dalam 50 ml air, dan (2) larutan 1,5 g kanji *P* dalam 50 ml air mendidih. Sebelum digunakan, campur 10 ml masing-masing larutan dengan 3 ml *etanol P*.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji*, *Larutan identifikasi*, *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku* pada jarak yang sama, 2,5 cm dari tepi bawah lempeng kromatografi *silika gel*. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi, yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga 15 cm di atas garis penotolan. Angkat lempeng, biarkan *Fase gerak* menguap dengan dialiri udara hangat selama tidak kurang dari 30 menit. Uapi lempeng dengan gas klorin tidak lebih dari 5 menit, dan keringkan di udara hingga klorin hilang (lebih kurang 15 menit). Semprot lempeng dengan *Larutan penampak bercak* dan segera bandingkan intensitas setiap bercak lain selain bercak utama *Larutan uji* dengan bercak utama *Larutan baku* dan *Enceran larutan baku*; jumlah intensitas seluruh bercak lain selain bercak utama *Larutan uji* tidak lebih dari 1,0%.

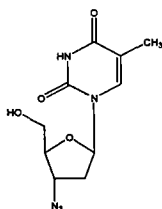
**Penetapan kadar** Timbang lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 70 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 10 ml *raksa(II) asetat LP* dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik, seperti tertera pada *Titrimetri <711>*, menggunakan elektrode kalomel-kaca. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *asam perklorat 0,1 N*  
setara dengan 28,08 mg  $C_{16}H_{24}N_2.HCl$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## ZIDOVUDIN

### Zidovudine



*Timidin, 3'-azido-3'-deoksi-3'-Azido-3'-deoksitimidin*  
[30516-87-1]  
 $C_{10}H_{13}N_5O_4$

BM 267,24

Zidovudin mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0%,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , dihitung terhadap zat anhidrat.

**Pemerian** Serbuk putih sampai kekuningan; melebur pada suhu 124° menghasilkan polimorfisme.

**Kelarutan** Agak sukar larut dalam air; larut dalam *etanol*.

**Baku pembanding** *Zidovudin BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Simpan dalam lemari pendingin. *Senyawa Sejenis B Zidovudin BPFi*; [3'-kloro-3'-deoksitimidin] ( $C_{10}H_{13}ClN_2O_4$  BM 260,68) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Senyawa Sejenis C Zidovudin BPFi*; [Timin] ( $C_5H_8N_2O_2$  BM 126,12) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam *kalium bromida P*, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Zidovudin BPFi*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Rotasi jenis** <1081> Antara +60,5° dan +63°, lakukan penetapan menggunakan larutan dalam *etanol P* yang mengandung 10 mg per ml.

**Air** <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 1,0%.

**Sisa pemijaran** <301> Tidak lebih dari 0,25%.

### Kemurnian kromatografi

#### UJIA

Lakukan penetapan secara *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Campuran *klorofrom P-metanol P* (9:1)

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Zidovudin BPFi* dan *trifenilmetanol P*, larutkan dalam *metanol P*, hingga kadar masing-masing lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan uji* Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dalam *metanol P* hingga kadar lebih kurang 20 mg per ml.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi campuran *silika gel* dengan indikator fluoresein setebal 0,25 mm dan mempunyai intensitas optimal pada 254 nm. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase*

gerak, biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas perambatan, biarkan Fase gerak menguap dan amati di bawah cahaya ultraviolet panjang gelombang pendek. Bandingkan intensitas bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji dengan bercak utama dari Larutan baku: bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji, ukuran dan intensitas tidak lebih dari bercak utama Larutan baku dan jumlah intensitas semua bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji tidak lebih dari 3,0%. Semprot lempeng dengan campuran 0,5 g karbazol dalam 95 ml etanol P dan 5 ml asam sulfat P, panaskan selama 10 menit pada 120° dan bandingkan intensitas bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji dengan bercak utama dari Larutan baku: bercak trifenilmetanol ( $R_f$  relatif terhadap Zidovudin lebih kurang 2,3) tidak lebih intensif dari pada bercak Larutan baku; bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji, ukuran dan intensitasnya tidak lebih dari bercak utama Larutan baku dan jumlah intensitas bercak lain selain bercak utama dari Larutan uji tidak lebih dari 3,0%.

#### UJI B

Senyawa sejenis B zidovudin tidak lebih dari 1,0%, senyawa sejenis C zidovudin tidak lebih dari 2,0%, dan jumlah semua cemaran dari Uji A dan Uji B tidak lebih dari 3,0%. Lakukan penetapan seperti tertera pada Penetapan kadar, menggunakan Larutan uji sebagai Larutan uji. Hitung persentase cemaran dengan rumus:

$$100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

$r_i$  adalah respons puncak masing-masing cemaran dan  $r_s$  adalah jumlah respons dari semua puncak.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
Metode V Memenuhi syarat; lakukan penetapan menggunakan dimetilsulfoksida sebagai pelarut.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Buat campuran air dan metanol P (80:20), saring dan awaudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku persediaan Timbang saksama sejumlah Zidovudin BPF1, larutkan dan encerkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml. Larutan baku persediaan senyawa sejenis B zidovudin. Timbang saksama sejumlah Senyawa Sejenis B Zidovudin BPF1, larutkan dan encerkan dalam metanol P hingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

Larutan baku persediaan senyawa sejenis zidovudin C Timbang saksama lebih kurang 20 mg Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1, masukkan dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 75 ml metanol P, sonikasi

selama 15 menit, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Larutan baku Pipet 10 ml Larutan baku persediaan, 1 ml Larutan baku persediaan senyawa sejenis B zidovudin dan 1 ml Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan metanol P sampai tanda, pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Sistem kromatografi lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm, kolom 25 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1 dan kolom pelindung 1,5 cm x 3,2 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif senyawa sejenis C zidovudin (timin), zidovudin dan senyawa sejenis B zidovudin (3'-kloro-3'-deoksitimidin) masing-masing lebih kurang 0,25: 1,0 dan 1,17; resolusi R, antara puncak zidovudin dan senyawa sejenis B zidovudin tidak kurang dari 1,4. Faktor ikutan tidak lebih dari 1,5 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Zidovudin BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

## INJEKSI ZIDOVUDIN

### Zidovudine Injection

Injeksi Zidovudin adalah larutan steril dalam Air untuk Injeksi. Mengandung zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Zidovudin BPF1**, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Simpan dalam lemari pendingin. Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1 [Timin] ( $C_5H_6N_2O_2$  BM 126,12) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. Endotoksin BPF1; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi.] Rekonstitusi seluruh isi, gunakan larutan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dan larutan, dalam lemari pendingin.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet Larutan uji menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada Zidovudin BPF1. Larutan uji (15 µg per ml) dibuat dengan mencampur sejumlah volume injeksi setara dengan 20 mg zidovudin dan 50 ml campuran metanol P-air (75:25) dalam labu tentukur 200-ml. Encerkan dengan campuran metanol P-air (75:25) sampai tanda. Pipet 15 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan campuran metanol P-air (75:25) sampai tanda, dan campur.

B. Waktu retensi puncak utama Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat lakukan penetapan dengan Penyaringan membran seperti tertera pada Uji Sterilitas dari produk yang diuji.

**pH** <1071> Antara 3,5 dan 7,0; lakukan penetapan menggunakan campuran sejumlah volume injeksi setara dengan 150 mg zidovudin dan 5 ml kalium klorida 0,12 M.

**Endotoksin bakteri** <201> Tidak lebih dari 1,0 unit Endotoksin FI per mg.

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 1,0%; Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak, Larutan baku persediaan, Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin dan Sistem kromatografi. Buat seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Zidovudin.

Larutan baku Pipet 10 ml Larutan baku persediaan dan 1,0 ml Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin ke dalam labu tentukur 100-ml tambahkan 25 ml air, campur, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Larutan uji Buat seperti tertera pada Larutan uji dalam Penetapan kadar.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam mg, senyawa sejenis C zidovudin (timin) dalam volume injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{Q} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis C zidovudin (timin) dari Larutan uji dan Larutan baku. Q adalah jumlah dalam mg zidovudin dalam sejumlah volume injeksi yang digunakan seperti tertera dalam Penetapan kadar.

**Syarat lain** Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak, Larutan baku persediaan, Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin dan Sistem kromatografi Buat seperti tertera pada Penetapan kadar dalam Zidovudin.

Larutan baku Pipet 10 ml Larutan baku persediaan dan 2,0 ml Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 25 ml air, campur dan encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Larutan uji Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 25 mg zidovudin masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, larutkan dan encerkan dengan Fase gerak sampai tanda.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatografi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , dalam jumlah volume injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar Zidovudin BPF1 dalam mg per ml Larutan baku;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

**Wadah dan penyimpangan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

#### KAPSUL ZIDOVUDIN Zidovudine Capsule

Kapsul Zidovudin mengandung zidovudin  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding** Zidovudin BPF1, tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Simpan dalam lemari pendingin. Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1 [Timin] ( $C_5H_6N_2O_2$  BM 126,12) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan uji menunjukkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Zidovudin BPFi*. *Larutan uji* (15 µg per ml) dibuat dengan mencampur serbuk kapsul setara dengan 300 mg zidovudin dan 50 ml campuran *metanol P* dan air (75:25) dalam labu tentukur 200-ml. Sonikasi selama 5 menit, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda, dan campur. Biarkan senyawa padat yang tidak larut mengendap, encerkan cairan bening seratus kali dengan campuran *metanol P* dan air (75:25) dan campur.

B. Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Disolusi<1231>**

*Media disolusi*: 900 ml air.

*Alat tipe 2*: 50 rpm.

*Waktu*: 45 menit.

*Prosedur* Lakukan penetapan jumlah C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> yang terlarut seperti tertera pada *Penetapan kadar*, jika perlu lakukan modifikasi.

*Toleransi* Dalam waktu 45 menit harus larut tidak kurang dari 75% (Q), zidovudin, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.**

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 3,0%; lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Larutan baku persediaan*, *Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin* dan *Sistem kromatografi* Buat seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Zidovudin*.

*Larutan baku* Buat seperti tertera pada *Larutan baku* dalam *Penetapan kadar*.

*Larutan uji* Buat seperti tertera pada *Larutan uji* dalam *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam mg, senyawa sejenis C zidovudin (timin) dalam serbuk kapsul yang digunakan, dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{Q} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Senyawa Sejenis C Zidovudin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak *senyawa sejenis C zidovudin* (timin) dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*; Q adalah jumlah dalam mg zidovudin dalam serbuk kapsul yang digunakan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera dalam *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak*, *Larutan baku persediaan* dan *Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin*. Buat seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Zidovudin*.

*Larutan baku* Pipet 10 ml *Larutan baku persediaan* dan 1 ml *Larutan persediaan senyawa sejenis C zidovudin* ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 25 ml air, campur, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang isi tidak kurang dari 20 kapsul. Timbang saksama sejumlah serbuk kapsul setara dengan lebih kurang 100 mg zidovudin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam campuran *metanol P*-air (75:25) sonikasi selama 20 menit dan encerkan dengan campuran *metanol P*-air (75:25) sampai tanda, biarkan zat padat mengendap dan pipet 10 ml bening ke dalam labu tentukur 100-ml. Encerkan dengan campuran *metanol P* dan air (75:25) sampai tanda, dan saring. Buang 4 ml filtrat pertama.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm, kolom 25 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi *L1* dan kolom pelindung 1,5 cm x 3,2 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis C zidovudin dan zidovudin masing-masing 0,2 dan 1,0 resolusi, R antara puncak zidovudin dan senyawa sejenis C zidovudin (timin) tidak kurang dari 5,0; faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatografi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg zidovudin, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> dalam serbuk kapsul yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Zidovudin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**LARUTAN ORAL ZIDOVUDIN**  
**Zidovudine Oral Solution**

Larutan Oral Zidovudin mengandung Zidovudin, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Zidovudin BPF1;** tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Simpan dalam lemari pendingin. **Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1;** [Timin] (C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> BM 126,12) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis* <281>.

*Fase gerak* Campuran butil alkohol P-n-heptan P-aseton P-ammonium hidroksida P (40:30:30:1,0).

*Larutan baku* Timbang saksama Zidovudin BPF1, buat larutan hingga kadar 5 mg per ml dalam campuran metanol P-air (75:25).

*Larutan uji* Timbang saksama zidovudin, buat larutan hingga kadar 5 mg per ml zat dalam metanol P.

*Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing 5 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada lempeng kromatografi campuran silika gel dengan indikator fluoresein setebal 0,25 mm dan mempunyai intensitas optimal pada 254 nm. Biarkan hingga kering dan masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak*, biarkan merambat hingga lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas perambatan dan biarkan *Fase gerak* menguap. Amati lempeng di bawah sinar ultraviolet panjang gelombang pendek: harga R<sub>f</sub> bercak utama yang diperoleh dari larutan uji sesuai dengan yang diperoleh dari *Larutan baku*.

B. Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku* seperti yang diperoleh pada *Penetapan kadar*.

**Batas mikroba** <51> Tidak boleh mengandung *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan tidak boleh mengandung *Salmonella sp* dan *Escherichia coli*.

**Keseragaman sediaan** <911> Memenuhi syarat. Untuk wadah dosis tunggal.

**Volume terpindahkan** <1261> Memenuhi syarat. Untuk sediaan oral dosis ganda.

**pH** <1071> Antara 3,0 dan 4,0: lakukan penetapan menggunakan campuran sejumlah volume larutan oral setara dengan 150 mg zidovudin dan 5 ml Kalium klorida 0,12 M (3:1).

**Senyawa sejenis** Tidak lebih dari 3,0% lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Fase gerak, Larutan baku persediaan, Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin dan Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke

dalam kromatografi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Hitung jumlah dalam mg senyawa sejenis C Zidovudin (timin) dalam larutan oral yang digunakan, dengan rumus:

$$1000 \left( \frac{C}{Q} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1* dalam mg per ml *Larutan baku*; r<sub>U</sub> dan r<sub>S</sub> berturut-turut adalah respons puncak senyawa sejenis C zidovudin(timin) dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Q adalah jumlah dalam mg zidovudin dalam sejumlah volume larutan oral yang digunakan seperti yang ditetapkan dalam *Penetapan kadar*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera *Kromatografi* pada <931>.

*Fase gerak* Buat campuran natrium asetat 0,040 M, metanol P-asetronitril P-asam asetat glasial P (900:90:10:2), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan baku persediaan* Timbang saksama sejumlah Zidovudin BPF1, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1,0 mg per ml.

*Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin* Timbang saksama lebih kurang 20 mg *Senyawa Sejenis C Zidovudin BPF1*, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml tambahkan 150 ml *Fase gerak*, sonikasi selama 10 menit encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Larutan baku* Pipet 10 ml *Larutan baku persediaan* dan 2 ml *Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda, dan campur.

*Larutan uji* Ukur saksama sejumlah volume larutan oral setara dengan lebih kurang 100 mg zidovudin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera kepada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 240 nm dan kolom 12,5 cm x 4,0 mm berisi bahan pengisi L1. Laju alir lebih kurang 1,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis C zidovudin(timin) dan zidovudin masing-masing 0,12 dan 1,0, resolusi, R, antara puncak zidovudin dan senyawa sejenis zidovudin C (timin) tidak kurang dari 4,0, faktor ikutan tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur

respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , dalam larutan oral yang digunakan dengan rumus:

$$1000C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Zidovudin BPFi dalam mg per ml Larutan baku;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

Wadah dan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

### TABLET ZIDOVUDIN Zidovudine Tablet

Tablet Zidovudin mengandung zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Baku pembanding Zidovudin BPFi;** tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya. Simpan dalam lemari pendingin. **Senyawa Sejenis B Zidovudin BPFi;** [3'-kloro-3'-deoksitimidin] ( $C_{10}H_{13}ClN_5O_4$  BM 260,68) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. **Senyawa Sejenis C Zidovudin BPFi;**[Timin] ( $C_5H_6N_2O_2$  BM 126,12) tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat uji yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Zidovudin BPFi. Zat uji dibuat dengan menggerus satu tablet dalam lumpang hingga tidak ada serpihan besar tertinggal dan sisihkan selaput penyalut sehingga didapat sisa lebih kurang 5 mg serbuk tablet.

B. Waktu retensi puncak utama Larutan uji sesuai dengan Larutan baku seperti yang diperoleh pada Penetapan kadar.

#### Disolusi <1231>

- Media disolusi : 900 ml air
- Alat tipe 2 : 50 rpm
- Waktu : 30 menit

Prosedur Lakukan penetapan jumlah  $C_{10}H_{13}N_5O_4$  yang terlarut seperti tertera pada Penetapan kadar, menggunakan alikuot dibandingkan dengan Larutan baku Zidovudin BPFi yang diketahui kadarnya dalam media yang sama.

Toleransi Dalam waktu 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q), zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Keseragaman sediaan <911> Memenuhi syarat.

Prosedur untuk keseragaman kandungan Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak Buat campuran air-metanol P (4:1), saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut Kesesuaian sistem seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Larutan baku Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan uji Masukkan satu tablet dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 20 ml air dan kocok menggunakan alat mekanik hingga tablet terdispersi. Tambahkan lebih kurang 30 ml metanol P dan sonikasi selama 10 menit. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 4 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan air sampai tanda, dan saring sebagian larutan melalui penyaring nilon yang sesuai, buang 2 ml filtrat pertama.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 265 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi L1 yang dideaktivasi dengan basa. Laju alir lebih kurang 2,0 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: faktor ikutan tidak lebih dari 2,0; dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg zidovudin,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ , dalam serbuk tablet yang digunakan dengan rumus:

$$2500C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

C adalah kadar Zidovudin BPFi dalam Larutan baku;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak Larutan uji dan Larutan baku.

Senyawa sejenis Tidak lebih dari 1,5% cemaran dengan waktu retensi relatif 0,17; cemaran lainnya masing-masing tidak lebih dari 0,2% dan total cemaran tidak lebih dari 2,0%.

Fase gerak, Larutan baku dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada Penetapan kadar.

Larutan uji Gunakan Larutan uji seperti tertera pada Penetapan kadar.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume yang sama (lebih kurang 20 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase masing-masing cemaran dalam tablet, dengan rumus:

$$\frac{100 \left( \frac{r_i}{r_s} \right)}{F}$$

*F* adalah faktor respons puncak relatif senyawa sejenis C zidovudin dan puncak lainnya dengan nilai berturut-turut 1,7 dan 1,0; *r<sub>i</sub>* adalah respons puncak cemar pada *Larutan uji* dan *r<sub>s</sub>* adalah respons puncak zidovudin pada *Larutan baku*.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Fase gerak* Larutkan 3,0 g natrium asetat *P* dan 1,3 g natrium 1-oktansulfonat *P* dalam 900 ml air. Tambahkan 90 ml metanol *P* dan 40 ml asetonitril *P*. Atur pH hingga 5,3 dengan asam asetat glasial *P*, saring dan awudarkan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

*Larutan baku persediaan senyawa sejenis B zidovudin* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis B Zidovudin BPFi*, larutkan dalam metanol *P*, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan metanol *P* sehingga kadar lebih kurang 0,1 mg per ml.

*Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin* Timbang saksama sejumlah *Senyawa Sejenis C Zidovudin BPFi*, larutkan dalam metanol *P* dengan sonikasi selama lebih kurang 15 menit, dan encerkan secara kuantitatif, dan jika perlu bertahap dengan metanol *P* hingga kadar lebih kurang 0,2 mg per ml.

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 30 mg *Zidovudin BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, dan larutkan dalam 3,0 ml metanol *P*. Tambahkan 2,5 ml *Larutan baku persediaan senyawa sejenis B zidovudin*, 5,0 ml *Larutan baku persediaan senyawa sejenis C zidovudin*, dan encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung zidovudin, senyawa sejenis B zidovudin, dan senyawa sejenis C zidovudin dengan kadar berturut-turut lebih kurang 0,12; 0,001 dan 0,004 mg per ml.

*Larutan uji* Masukkan sejumlah tablet setara dengan 1500 mg zidovudin, ke dalam labu tentukur 500-ml. Tambahkan lebih kurang 50 ml air, kocok secara mekanik, selama 30 menit sampai tablet terdispersi. Tambahkan lebih kurang 150 ml metanol *P* dan sonikasi selama 10 menit. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 4 ml ke dalam labu tentukur 100-ml, dan encerkan dengan air sampai tanda. Campur dan saring melalui penyaring nilon yang sesuai, buang 2 ml filtrat pertama.

*Sistem kromatografi* Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi detektor 265 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm berisi bahan pengisi *L1*. Laju alir lebih kurang 1,3 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif senyawa sejenis C zidovudin (Timin), zidovudin, dan senyawa sejenis B zidovudin berturut-turut 0,17; 1,0; dan 1,2. Resolusi, *R*, antara puncak zidovudin dan senyawa

sejenis B zidovudin tidak kurang dari 2,5; faktor ikutan puncak zidovudin tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah mg zidovudin, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, dalam tiap tablet yang digunakan dengan rumus:

$$12500 \left( \frac{C}{N} \right) \left( \frac{r_U}{r_S} \right)$$

*C* adalah kadar *Zidovudin BPFi* dalam mg per ml *Larutan baku*; *N* adalah jumlah tablet yang digunakan dalam *Larutan uji*; *r<sub>U</sub>* dan *r<sub>S</sub>* berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya dan pada suhu ruang terkendali.

## ZINK KLORIDA Zinc Chloride

*Zink Klorida* [7646-85-7]  
ZnCl<sub>2</sub>

BM 136,29

Zink Klorida mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 100,5% ZnCl<sub>2</sub>.

**Pemerian** Serbuk hablur atau granul hablur; putih atau hampir putih. Dapat berupa massa seperti porselen atau berbentuk silinder. Sangat mudah mencair. Larutan (1 dalam 10) bereaksi asam terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam etanol dan dalam gliserin. Larutan dalam air atau dalam etanol biasanya agak keruh, tetapi kekeruhan hilang jika ditambahkan sedikit asam klorida.

**Identifikasi** Larutan menunjukkan reaksi *Zink* dan *Klorida* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Oksiklorida** Larutkan 1,0 g zat dalam 20 ml air, tambahkan 20 ml etanol *P*, dan campur. Pada 10 ml larutan, tambahkan 0,30 ml asam klorida 1,0 *N*: larutan menjadi jernih.

**Sulfat <361>** Tidak lebih dari 0,03%; larutkan 1,0 g zat dalam 30 ml air: 20 ml larutan mengandung sulfat tidak lebih dari 0,20 ml asam sulfat 0,020 *N*.

**Alkali dan alkali tanah** Tidak lebih dari 1,0% larutkan 2,0 g zat dengan lebih kurang 150 ml air dalam labu tentukur 200-ml. Tambahkan sejumlah amonium sulfida *LP* hingga zink mengendap sempurna,



tambahkan air sampai tanda. Saring dengan penyaring kering dan buang sejumlah volume filtrat pertama. Pada 100 ml filtrat tambahkan 5 tetes *asam sulfat P*, uapkan hingga kering dan pijarkan: bobot sisa tidak lebih dari 10 mg.

**Garam amonium** Pada 5 ml larutan (1 dalam 10) tambahkan *natrium hidroksida 1 N* sampai endapan yang mula-mula terbentuk larut kembali, hangatkan larutan: tidak terjadi bau amoniak.

**Timbal <401>** Tidak lebih dari 50 bpj; larutkan 500 mg zat dalam 5 ml air dan pindahkan larutan dalam tabung pembanding warna (A). Tambahkan 15 ml larutan *kalium sianida P* (1 dalam 10). Campur dan biarkan hingga larutan jernih. Masukkan 5 ml air ke dalam tabung pembanding warna yang serupa (B), tambahkan 2,50 ml *Larutan baku timbal* seperti tertera pada *Uji Batas Logam Berat <371>* dan 15 ml larutan *kalium sianida P* (1 dalam 10). Pada masing-masing tabung (A dan B) tambahkan 0,1 ml *natrium sulfat LP*. Campur dan biarkan selama 5 menit. Amati dengan latar belakang warna putih: larutan A tidak lebih gelap dari larutan B.

**Cemaran senyawa organik mudah menguap <471>**  
*Metode I* Memenuhi syarat.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 12 g zat, masukkan ke dalam tentukur 1000-ml, larutkan dalam lebih kurang 500 ml air, tambahkan 12 g *amonium klorida P*, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 25 ml larutan ini ke dalam gelas piala 400 ml, tambahkan 100 ml air, 10 ml *dapar amonium hidroksida-amonium klorida LP* dan 1 ml larutan *hitam eriokrom P* (1 dalam 2000). Titrasi dengan *dinatrium edetat 0,05 MLV* sampai titik akhir berwarna biru tua.

*Tiap ml dinatrium edetat 0,05 M  
setara dengan 6,815 mg ZnCl<sub>2</sub>*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## ZINK OKSIDA Zinc Oxide

*Zink Oksida* [1314-13-2]  
ZnO

BM 81,38

Zink Oksida yang baru dipijarkan mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% ZnO.

**Pemerian** Serbuk amorf, sangat halus; putih atau putih kekuningan; tidak berbau; lambat laun menyerap karbon dioksida dari udara.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam asam encer.

## Identifikasi

A. Jika dipanaskan dengan kuat, terjadi warna kuning yang akan hilang pada pendinginan.

B. Larutan dalam *asam klorida 3 N* sedikit berlebih, menunjukkan reaksi *Zink* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

**Kebasaan Campur** 1,0 g zat dengan 10 ml air panas, tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* dan saring: jika terjadi warna merah, diperlukan tidak lebih dari 0,30 ml *asam klorida 0,10 N* untuk menghilangkannya.

**Sisa pemijaran <301>** Tidak lebih dari 1,0%; lakukan pemijaran pada suhu 500° hingga bobot tetap, menggunakan lebih kurang 2 g zat.

**Karbonat dan warna larutan** Campur 2,0 g zat dengan 10 ml air, tambahkan 30 ml *asam sulfat 2 N*, panaskan di atas tangas uap dengan pengadukan: tidak terjadi gelembung gas, larutan jernih dan tidak berwarna.

**Arsen <321> Metode I** Tidak lebih dari 6 bpj.

**Besi dan logam berat lain** Dinginkan 5 ml larutan yang diperoleh pada penetapan *Karbonat dan warna larutan*, dengan *kalium besi(II) sianida LP* dan dengan *natrium sulfida LP*: terbentuk endapan putih.

**Timbal <401>** Tambahkan 2 g zat pada 20 ml air, aduk baik-baik, tambahkan 5 ml *asam asetat gasial P* dan hangatkan di atas tangas uap sampai larut, dengan penambahan 5 tetes *kalium kromat LP*: tidak terbentuk kekeruhan atau endapan.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 1,5 g zat yang baru dipijarkan, tambahkan 2,5 g *amonium klorida P*, larutkan dalam 50,0 ml *asam sulfat 1 N LV*, jika perlu bantu dengan pemanasan lemah. Setelah larut sempurna tambahkan *jingga metil LP* dan titrasi kelebihan asam sulfat dengan *natrium hidroksida 1 N LV*.

*Tiap ml asam sulfat 1 N  
setara dengan 40,69 mg ZnO*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

## ZINK SULFAT Zinc Sulfate

ZnSO<sub>4</sub> [7733-02-0]

BM 161,44

ZnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O

BM 179,46

ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O [7446-20-0]

BM 287,54

Zink Sulfat mengandung satu atau tujuh molekul air hidrat. Zink Sulfat monohidrat mengandung tidak kurang dari 89,0% dan tidak lebih dari 90,4% ZnSO<sub>4</sub>, setara dengan tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari

100,5%  $ZnSO_4 \cdot H_2O$ , dan zink sulfat heptahidrat mengandung tidak kurang dari 55,6% dan tidak lebih dari 61,0%  $ZnSO_4$ , setara dengan tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 108,7%  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ,

**Pemerian** Hablur transparan atau jarum-jarum kecil; serbuk hablur atau butir; tidak berwarna; tidak berbau; larutan memberikan reaksi asam terhadap lakmus.

**Kelarutan** Sangat mudah larut dalam air; mudah larut dalam gliserol; tidak larut dalam etanol.

**Identifikasi** Larutan menunjukkan reaksi *Zink* dan *Sulfat*, seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum* <291>.

**Keasaman** Larutan yang mengandung setara dengan 28 mg  $ZnSO_4$  per ml, tidak berwarna merah muda dengan *jingga metil LP*.

**Alkali dan alkali tanah** Tidak lebih dari 0,9%; larutkan setara dengan 1,12 g  $ZnSO_4$  dalam lebih kurang 150 ml air, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml. Tambahkan *amonium sulfida LP* secukupnya hingga terbentuk endapan sempurna, encerkan dengan air sampai tanda. Campur dan saring melalui kertas saring kering, buang sejumlah filtrat pertama. Pada 100 ml filtrat berikutnya, tambahkan beberapa tetes *asam sulfat P*, uapkan dalam cawan yang telah ditara hingga kering, pijarkan: bobot residu tidak lebih dari 5 mg.

**Arsen** <321> *Metode I* Tidak lebih dari 14 bpj; lakukan penetapan menggunakan setara dengan 215 mg  $ZnSO_4$  yang dilarutkan dalam 35 ml air.

**Timbal** <401> Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan menggunakan sejumlah zat setara dengan 250 mg  $ZnSO_4$  yang dilarutkan dalam 5 ml air, masukkan ke dalam tabung pembanding warna *A*. Tambahkan 10 ml larutan *kaliun sianida P* 10%, campur dan biarkan hingga jernih. Pada tabung pembanding warna yang lain (*B*) masukkan 5 ml air, tambahkan 0,50 ml *Larutan baku timbal* (seperti tertera pada *Uji Bata's Logam Berat* <371> dan 10 ml larutan *kaliun sianida P* 10%. Pada Masing-masing tabung tambahkan 0,1 ml *natrium sulfida LP*. Campur isi masing-masing tabung, biarkan selama 5 menit, amati dengan arah tegak lurus tabung dengan dasar putih: warna larutan dalam tabung *A* tidak lebih gelap dari warna larutan dalam tabung *B*.

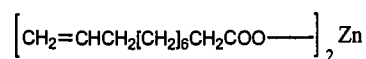
**Penetapan kadar** Timbang saksama sejumlah zat setara lebih kurang 170 mg  $ZnSO_4$ , larutkan dalam 100 ml air. Tambahkan 5 ml larutan *dapar amonium hidroksida-amonium klorida LP* dan 0,1 ml *hitam eriokrom LP*. Titrasi dengan *dinatrium edetat 0,05 MLV* hingga warna biru tua.

*Tiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 8,072 mg  $ZnSO_4$*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat.

## ZINK UNDESILENAT

### Zinc Undecylenate



*Garam Zink dari asam 10-undesenoat* [557-08-4]

$C_{22}H_{38}O_4Zn$

BM 431,92

Zink Undesilenat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{22}H_{38}O_4Zn$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Pemerian** Serbuk halus; putih.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air dan dalam etanol.

### Identifikasi

A. Pada lebih kurang 5 g tambahkan 25 ml *asam sulfat 2 N*, tambahkan 20 ml air, lakukan ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 25 ml *eter P* dalam corong pisah. Uapkan larutan eter hingga bau eter hilang. Tambahkan *kaliun permanganat LP* tetes demi tetes pada 1 ml residu: warna permanganat hilang.

B. 3 ml larutan dari residu untuk *Identifikasi A* memberikan reaksi seperti tertera pada *Identifikasi B* dalam *Asam Undesilenat*.

C. Larutkan lebih kurang 100 mg zat dalam campuran 10 ml air dan 1 ml *amonium hidroksida P*, tambahkan beberapa tetes *natrium sulfida LP*: terbentuk endapan flokulen putih zink sulfida.

**Susut pengeringan** <1121> Tidak lebih dari 1,25%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Alkali dan alkali tanah** Tidak lebih dari 1,0%; didihkan 1,50 g dengan campuran 50 ml air dan 10 ml *asam klorida P*, saring selagi panas, cuci asam yang terpisah dengan lebih kurang 50 ml air panas. Kumpulkan filtrat dan air cucian, basakan dengan *amonium hidroksida 6 N*, tambahkan *amonium sulfida LP* sampai zink mengendap sempurna, encerkan dengan air sampai 200 ml, campur dan saring. Pada 100 ml filtrat jernih tambahkan 0,5 ml *asam sulfat P*, uapkan hingga kering dan pijarkan di atas api kecil hingga bobot tetap: bobot residu tidak lebih dari 7,5 mg.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 1 g zat dan didihkan dengan 50,0 ml *asam sulfat 0,1 N LV* selama 10 menit atau lapisan asam undesilenat jernih, jika perlu tambahkan air untuk menjaga volume agar tetap. Dinginkan dan pindahkan campuran dengan bantuan air ke dalam corong pisah 500 ml air, encerkan dengan air hingga lebih kurang 200 ml dan ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 100 ml *n-heksan P*, cuci kumpulan heksan dengan air hingga cucian akhir memberikan reaksi netral terhadap *lakmus P*, tambahkan air cucian ke dalam lapisan air semula, uapkan di atas tangas uap

sampai lebih kurang 100 ml. Dinginkan, tambah 3 tetes *jingga metil LP* dan titrasi kelebihan asam sulfat dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam sulfat 0,1 N  
setara dengan 21,60 mg C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>Zn*

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.



**L A M P I R A N**



## LAMPIRAN

### BAKU PEMBANDING FARMAKOPE INDONESIA <11>

Baku Pembanding Farmakope Indonesia untuk selanjutnya ditulis Baku Pembanding FI atau BPFi dibuat dan diedarkan di bawah wewenang Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, yang masing-masing lotnya telah lolos dari seleksi dan kesesuaian. Karakteristik kritis tiap lot dari spesimen dipilih untuk pembuatan pembanding ditetapkan atas dasar hasil pengujian dari 3 (tiga) atau lebih laboratorium secara independen.

BPFi adalah senyawa yang telah dikarakterisasi, seperti obat tertentu (senyawa obat, produk biologik, eksipien, cemaran, hasil urai, pereaksi dan juga termasuk baku pembanding untuk verifikasi kinerja). Jika disahkan untuk digunakan sebagai baku pembanding pada pengujian kualitatif atau kuantitatif (sebagai bagian dari monografi) pada Farmakope Indonesia, BPFi bersifat resmi dan memiliki legalitas hukum di Indonesia. Pemastian kesesuaian untuk pemakaian pada aplikasi lainnya ditentukan oleh pengguna. BPFi adalah baku pembanding primer dalam wilayah hukum Republik Indonesia, jika memungkinkan dikalibrasi atau dibandingkan terhadap baku pembanding internasional seperti disediakan oleh World Health Organization. BPFi tidak digunakan untuk tujuan terapi. BPFi disediakan untuk tujuan metrologi legal dan dapat membantu memastikan perbandingan hasil dan ketertelusuran terhadap Satuan Internasional (SI), baik disertifikasi atau tidak.

### JENIS BAKU PEMBANDING

#### Baku Pembanding untuk artikel Farmakope Indonesia

Baku Pembanding untuk artikel resmi dalam Farmakope Indonesia tersedia sebagai bahan murni atau campuran bahan kimia seperti bahan obat atau eksipien tertentu. Penggunaan bahan-bahan ini ditentukan dalam masing-masing monografi dan umumnya digunakan dalam penetapan kadar dan/atau uji identifikasi. Penggunaan BPFi diluar ketentuan dalam monografi adalah tanggungjawab pengguna. Nilai karakteristik atau nilai perhitungan BPFi dinyatakan pada sertifikat baku pembanding.

#### Baku Pembanding Cemaran

Baku Pembanding untuk cemaran dapat berupa:

- Cemaran organik yang terbentuk baik pada saat proses produksi maupun selama penyimpanan bahan dan dapat termasuk bahan awal, bahan antara, produk sampingan, pereaksi, katalisator, dan/atau hasil urai.
- Cemaran anorganik yang umumnya dihasilkan dari proses sintesis; termasuk antara lain pereaksi, katalisator, logam berat, dan garam anorganik.
- Sisa pelarut yang dapat berupa larutan organik atau anorganik yang digunakan selama proses sintesis.

Baku Pembanding Cemaran dapat berupa bahan tunggal yang dimurnikan atau campuran lebih dari satu cemaran. Cara lain untuk mengendalikan cemaran adalah dengan menyatakan kandungan cemaran pada bahan resmi dalam sertifikat; menggunakan waktu retensi relatif kromatografi dan faktor respons atau menyatakan nilai teoritis seperti serapan jenis UV pada panjang gelombang tertentu. Nama senyawa baku pembanding ditulis dalam **nama umum** dinyatakan dalam etiket dan sertifikat baku pembanding.

#### Bahan Pembanding Bersertifikat

Bahan Pembanding Farmakope Indonesia Bersertifikat adalah Baku Pembanding yang memiliki sertifikat nilai karakteristik dengan ketidakpastian terkait dan ketertelusuran metrologi, yang sesuai dengan *International Organization for Standardization (ISO) Guide 30-35*. Penggunaan yang benar dari Bahan Pembanding Farmakope Indonesia Bersertifikat ini menunjang ketertelusuran hasil terhadap satuan Standar Internasional dan komparasi prosedur.

#### Baku Pembanding Farmakope Indonesia untuk Produk Biologik

Farmakope Indonesia menyediakan Baku Pembanding untuk produk biologi dan bahan tambahannya. Seperti tertera pada *Unit Potensi (Produk Biologi)* dalam *Ketentuan dan Persyaratan Umum*, BPFi untuk produk biologi dapat berbeda dalam satuan, definisi, atau standar lain yang diakui secara internasional. Baku Pembanding Farmakope Indonesia dipersyaratkan dalam pengujian dan penetapan kadar pada Farmakope Indonesia.

#### Baku Uji Verifikasi Kinerja Farmakope Indonesia

Bahan ini digunakan untuk menganalisis atau untuk membantu penyesuaian operasi instrumen untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh akurat dan atau presisi, atau memberikan hasil yang bisa diterima. Penggunaan Baku Pembanding ini secara umum dijelaskan dalam bab uji umum dan informasi terkait.

### PENGUNAAN BAKU PEMBANDING FARMAKOPE INDONESIA

Penggunaan resmi Baku Pembanding Farmakope Indonesia ditetapkan dalam monografi dan *Ketentuan Umum* Farmakope Indonesia, yaitu:

- Penggunaan kuantitatif pada penetapan kadar dari zat aktif dan sediaan, uji batas, atau blangko dan kontrol.
- Penggunaan kualitatif (seperti uji identifikasi, uji kesesuaian sistem, atau penanda puncak kromatografi).
- Penggunaan metode khusus (seperti baku verifikasi kinerja, baku titik leleh, dan penghitung partikel).

## PENGEMASAN

Jumlah bahan untuk masing-masing wadah Baku Pembanding Farmakope Indonesia tergantung dari penggunaan yang sesuai dan secara umum cukup untuk beberapa kali pengulangan. Beberapa baku (khususnya bahan dengan persyaratan penanganan khusus atau bahan yang tersedia hanya dalam jumlah sedikit) tersedia dalam wadah satuan tunggal. Wadah satuan tunggal tersebut umumnya diliofilisasi, dan kandungannya diberi etiket dalam massa dan satuan aktivitas per wadah pada sertifikat pengujian. Jika diberi etiket demikian, kandungan wadah tersebut harus direkonstitusi seluruhnya tanpa penimbangan. Petunjuk rekonstitusi diberikan pada sertifikat pengujian atau dalam monografi baku tersebut.

## SERTIFIKAT PENGUJIAN

Sertifikat pengujian berisi seluruh informasi yang diperlukan untuk penyimpanan dan pemakaian Baku Pembanding Farmakope Indonesia yang benar sesuai monografi. Informasi termasuk petunjuk penggunaan, peringatan keamanan, informasi persyaratan untuk senyawa terkendali, dan nilai karakteristik atau nilai perhitungan baku dengan pemakaian kuantitatif. Kecuali dinyatakan lain dalam prosedur pada monografi atau *Ketentuan Umum*, Baku Pembanding Farmakope Indonesia harus digunakan sesuai dengan petunjuk pada sertifikat pengujian Baku Pembanding.

Walaupun Baku Pembanding Farmakope Indonesia mengalami pengujian ulang untuk menentukan kesesuaian lanjutan penggunaan, Baku Pembanding Farmakope Indonesia tidak mencantumkan waktu kedaluwarsa pada etiket.

## PENANDAAN

Tulisan pada etiket berisi informasi nama baku pembanding, nomor kontrol, massa, nama dan alamat produsen.

## PEMAKAIAN

Banyak pengujian dan penetapan kadar di Farmakope berdasarkan perbandingan antara zat uji dengan Baku Pembanding Farmakope Indonesia. Pada pengujian tersebut, pengukuran dilakukan terhadap sediaan zat uji dan baku. Jika ditentukan bahwa larutan baku atau preparasi baku disiapkan untuk pengujian kuantitatif dengan pengenceran secara bertahap atau cara lain, maka baku pembanding harus ditimbang saksama seperti tertera pada *Timbangan dan Anak timbangan* <41> dan *Peralatan Volumetrik* <21>. Perhitungan juga harus mencantumkan kemungkinan kesalahan dari penimbangan massa dalam jumlah sedikit seperti tertera pada *Penyesuaian Larutan* dalam *Ketentuan Umum*. Baku Pembanding wadah satuan tunggal seperti tersebut di atas adalah pengecualian.

Petunjuk penggunaan Baku Pembanding Farmakope Indonesia meliputi sebagai berikut:

- *Gunakan langsung* Tanpa perlakuan khusus atau koreksi untuk penguapan.
- *Keringkan sebelum digunakan* Gunakan segera setelah pengeringan pada kondisi yang ditentukan. Pengeringan tidak boleh dilakukan pada wadah aslinya. Sebagian bahan harus dipindahkan ke dalam wadah pengering.
- *Tetapkan kadar air secara titrimetri pada saat akan digunakan* Lakukan koreksi kadar air atau susut pengeringan yang ditetapkan pada sebagian bahan. Penetapan kadar air secara titrimetri dilakukan dengan cara *Metode I* seperti tertera pada *Penetapan Kadar Air* <1031>. Penetapan kadar air dapat juga dilakukan dengan metode instrumen atau mikroanalitik. Jika menggunakan sejumlah tertentu (lebih kurang 50 mg Baku Pembanding), titrasi dengan pereaksi yang diencerkan empat kali. Jika dipersyaratkan penetapan susut pengeringan dari Baku Pembanding Farmakope Indonesia, maka gunakan prosedur sesuai yang tertera pada sertifikat pengujian. Jumlah contoh yang lebih kecil dari persyaratan yang tertera pada *Susut Pengeringan* <1121> dapat digunakan untuk Baku Pembanding Farmakope Indonesia jika pengguna dapat memperoleh hasil yang akurat.

Jika pada sertifikat pengujian dipersyaratkan pengeringan atau koreksi terhadap penguapan, harus dilakukan pada saat akan digunakan. Perlakuan lebih lanjut harus dikendalikan oleh prosedur operasional pengguna dan Cara Berlaboratorium yang Baik.

## PENYIMPANAN

Baku Pembanding Farmakope Indonesia harus disimpan dalam wadah yang ditetapkan oleh Farmakope Indonesia (misalnya vial yang kedap udara atau vial yang dikemas dalam kantong tertutup kedap udara). Jika ditentukan penyimpanan khusus, maka harus mengikuti petunjuk pada sertifikat pengujian. Vial yang belum dibuka harus disimpan sesuai dengan petunjuk pada sertifikat pengujian. Pengguna harus memastikan bahwa isi dari vial yang sudah dibuka masih sesuai untuk digunakan dan memenuhi nilai yang tertera, dan informasi ketidakpastian masih dalam rentang yang dapat diterima.

## PERALATAN VOLUMETRIK <21>

Sebagian besar peralatan volumetrik yang digunakan dalam Farmakope Indonesia Edisi V adalah peralatan yang dikalibrasi pada suhu 20°, walaupun pada umumnya saat penggunaan alat tersebut di laboratorium suhu lebih mendekati 25°, yaitu suhu yang umum digunakan untuk pengujian dan penetapan kadar menurut Farmakope. Ketidaksesuaian ini tidak berarti, apabila suhu ruang tetap.



**Penggunaan** Untuk memperoleh derajat ketelitian yang diinginkan dalam penetapan kadar menurut Farmakope, termasuk diantaranya pengukuran secara volumetri dan pernyataan bahwa suatu pengukuran harus “diukur secara seksama”, alat harus dipilih dan digunakan dengan hati-hati. Ukuran buret harus sedemikian hingga volume titran tidak kurang dari 30% volume nominal. Bila volume titran yang diukur kurang dari 10 ml, umumnya diperlukan buret 10 ml atau mikroburet.

Rancangan alat volumetrik merupakan faktor penting dalam menjamin kesaksamaan. Misalnya panjang skala dari gelas ukur harus tidak kurang dari 5 kali diameter dalam; ujung buret dan pipet harus membatasi laju aliran agar tidak lebih dari 500 µl per detik.

**Standar kesaksamaan** Toleransi kapasitas untuk labu tentukur, pipet volume dan buret harus sesuai dengan yang tertera pada tabel.

Toleransi kapasitas untuk pengukuran pipet ukur sampai dengan kapasitas 10 ml agak lebih besar dari pipet volume dengan ukuran yang setara yaitu berturut-turut 10 µl, 20 µl dan 30 µl untuk ukuran 2 ml, 5 ml dan 10 ml.

Pipet volume dan pipet ukur yang dikalibrasi sebagai pemindah (td), harus dialirkan dalam posisi tegak lurus dan disentuhkan pada dinding labu penampung untuk mengeluarkan sisa pada ujung pipet. Pembacaan volume pada buret harus dapat diperkirakan hingga mendekati 0,01 ml untuk buret 25 ml dan 50 ml dan hingga mendekati 0,005 ml untuk buret 5 ml dan 10 ml. Pipet yang dikalibrasi secara khusus (tc) umumnya digunakan untuk pengukuran cairan kental seperti sirup, dalam hal demikian labu tentukur dapat dipakai sebagai pengganti pipet tersebut, untuk itu pipet atau labu tentukur harus dibilas sampai bersih dan bilasan ditambahkan pada bagian cair yang diukur.

Labu tentukur

Volume yang dinyatakan (ml)	10	25	50	100	250	500	1000
Batas kesalahan (ml)	0,02	0,03	0,05	0,08	0,12	0,15	0,30
Batas kesalahan (%)	0,20	0,12	0,10	0,08	0,05	0,04	0,03

Pipet volume

Volume yang dinyatakan (ml)	1	2	5	10	25	50	100
Batas kesalahan (ml)	0,006	0,006	0,01	0,02	0,03	0,05	0,08
Batas kesalahan (%)	0,60	0,30	0,20	0,20	0,12	0,10	0,08

Buret

Volume yang dinyatakan (ml)	10 (tipe mikro)	25	50
Batas kesalahan (ml)	0,02	0,10	0,10
Batas kesalahan (%)	0,02	0,03	0,05

**TERMOMETER <31>**

Alat pembacaan suhu yang sesuai untuk uji Farmakope, memenuhi spesifikasi yang tertelusur terhadap standar nasional. Alat pembacaan suhu dapat berupa tipe cairan dalam kaca atau suatu jenis indikator suhu digital atau analognya, seperti alat resistensi suhu, termister, atau termokopel.

Suatu indikator suhu digital atau analognya terdiri dari “probe” suhu yang merupakan tempat sensor. “Probe” suhu dihubungkan dengan suatu alat ukur yang mampu menerjemahkan sinyal dalam ohm atau milivolt menjadi pembacaan suhu. Bagian “probe” suhu dari indikator suhu digital atau analognya yang direndam dalam media yang suhunya diukur harus dibuat dari bahan yang inert. Standardisasi indikator suhu digital dan analognya dilakukan pada suhu standar yang tertelusur terhadap standar nasional, dengan frekuensi pengujian yang ditetapkan. Dalam pemilihan alat pembacaan suhu, perlu dipertimbangkan dengan hati-hati kondisi penggunaan.

Termometer cair dalam kaca dapat distandardisasi dengan pencelupan total, pencelupan sebagian atau pencelupan keseluruhan. Sepanjang dapat dilaksanakan, setiap termometer harus digunakan sesuai dengan kondisi pencelupan seperti pada saat distandardisasi. Standardisasi termometer dilakukan pada frekuensi pengujian yang ditetapkan dengan suhu standar yang tertelusur terhadap standar nasional. Mengacu pada standar E1 yang terkini. Standardisasi termometer cair dalam kaca untuk pencelupan total, meliputi pencelupan termometer sampai bagian atas kolom cairan dengan sisa batang termometer dan bagian atas dari ruang ekspansi dibiarkan pada suhu ruang. Standardisasi untuk pencelupan sebagian, meliputi pencelupan termometer hingga batas garis celup yang ditandai dengan goresan pada bagian depan termometer dan menyisakan batang termometer yang dibiarkan pada suhu ruang. Standardisasi untuk pencelupan keseluruhan, meliputi pencelupan seluruh termometer, tidak ada bagian batang termometer yang dibiarkan berhubungan dengan suhu ruang. Untuk penggunaan pada kondisi pencelupan lain, diperlukan koreksi terhadap batang yang tidak tercelup hingga diperoleh pembacaan suhu yang benar.

Pada pemilihan termometer, penting untuk dipertimbangkan dengan hati-hati, mengenai kondisi pada saat digunakan. Tabel yang disertakan pada bagian ini menunjukkan spesifikasi sejumlah termometer yang sesuai untuk uji Farmakope, termasuk angka-angka batas

atas dan batas bawah rentang suhu yang tercantum dalam *Tabel*.

### Spesifikasi Termometer

Seri No	Rentang Suhu (°C)	Pembagian Skala (°C)	Pencelupan (mm)
---------	-------------------	----------------------	-----------------

#### Termometer untuk Pemakaian Umum termasuk Penetapan Jarak Lebur

1C	-20 sampai 150	1	76
2C	-5 sampai 300	1	76
3C	-5 sampai 400	1	76

#### Termometer untuk Penetapan Jarak Didih atau Jarak Destilasi atau Penetapan Suhu

37C	-2 sampai 52	0,2	100
38C	24 sampai 78	0,2	100
39C	48 sampai 102	0,2	100
40C	72 sampai 152	0,2	100
41C	98 sampai 152	0,2	100
102C	123 sampai 177	0,2	100
103C	148 sampai 202	0,2	100
104C	173 sampai 227	0,2	100
105C	198 sampai 252	0,2	100
106C	223 sampai 277	0,2	100
107C	248 sampai 302	0,2	100

#### Termometer untuk Penetapan Jarak Beku atau Penetapan Suhu

89C	-20 sampai 10	0,1	76
90C	0 sampai 30	0,1	76
91C	20 sampai 50	0,1	76
92C	40 sampai 70	0,1	76
93C	60 sampai 90	0,1	76
94C	80 sampai 110	0,1	76
95C	100 sampai 130	0,1	76
96C	120 sampai 150	0,1	76

## TIMBANGAN DAN ANAK TIMBANGAN <41>

Pada pengujian dan penetapan kadar menurut Farmakope diperlukan penggunaan timbangan yang beragam dalam kapasitas, kepekaan dan reproduibilitas. Kecuali dinyatakan lain, jika zat dinyatakan "timbang saksama" untuk penetapan kadar, maka penimbangan

harus dilakukan dengan menggunakan alat timbangan yang ketidakpastian pengukurannya (kesalahan acak ditambah dengan kesalahan sistematis) tidak lebih dari 0,1% pembacaan. Misalnya, ditimbang sejumlah 50 mg, maka kesalahan mutlak tidak lebih dari 50 µg. Ketidakpastian pengukuran memenuhi syarat jika pada penimbangan ulang tidak kurang dari 10 kali, tiga kali nilai simpangan baku dibagi dengan jumlah yang ditimbang tidak lebih dari 0,001. Kecuali dinyatakan lain, untuk uji batas secara titrimetri, penimbangan harus memungkinkan diperolehnya angka signifikan dari bobot analit setara dengan angka signifikan dari kadar titran.

Penggolongan kelas berikut ini dibuat berdasarkan peningkatan toleransi:

Anak timbangan kelas 1 adalah anak timbangan yang digunakan untuk kalibrasi pada timbangan berkapasitas rendah dengan kepekaan tinggi. Tersedia dengan satuan yang bervariasi dari 1 mg sampai 500 mg. Toleransi untuk setiap satuan dalam kelas ini adalah 5 µg. Dianjurkan untuk mengkalibrasi timbangan yang menggunakan metode optik atau elektrik untuk penimbangan dengan saksama sejumlah zat di bawah 20 mg.

Anak timbangan kelas 1 adalah anak timbangan dengan ketelitian tinggi yang digunakan untuk kalibrasi. Dapat digunakan untuk menimbang saksama sejumlah zat di bawah 20 mg (untuk anak timbangan 10 g atau kurang, persyaratan kelas 1 memenuhi kelas M seperti tertera pada *Tabel*).

Anak timbangan kelas 2 adalah anak timbangan yang digunakan sebagai baku kerja untuk kalibrasi, terpasang pada timbangan analitik dan anak timbangan laboratorium untuk analisis rutin (Persyaratan kelas 2 memenuhi kelas S seperti tertera pada *Tabel*).

Anak timbangan kelas 3 dan 4 adalah anak timbangan yang digunakan pada timbangan laboratorium dengan ketelitian sedang (Persyaratan kelas 3 memenuhi kelas S-1; persyaratan kelas 4 memenuhi kelas P seperti tertera pada *Tabel*).

Kelas anak timbangan dipilih sehingga toleransi bobot yang digunakan tidak lebih dari 0,1% dari jumlah yang ditimbang. Umumnya kelas 2 dapat digunakan untuk jumlah lebih besar dari 20 mg, kelas 3 untuk jumlah lebih besar dari 50 mg dan kelas 4 untuk jumlah lebih besar dari 100 mg.

Timbangan harus dikalibrasi secara berkala, sebaiknya terhadap anak timbangan baku mutlak.

Toleransi untuk anak timbangan baru dalam set

Satuan (g)	Kelas M		Kelas S		Kelas S-1	Kelas P
	Masing-masing (µg)	Kelompok (µg)	Masing-masing (µg)	Kelompok (µg)	Masing-masing (µg)	Kelompok (µg)
100	500		250		1000	2000
50	250		120		600	1200
30	150		74	154	450	900
20	100		74	154	350	700
10	50		74	154	250	500
5	34	65	54	105	180	360
3	34	65	54	105	150	300
2	34	65	54	105	130	260
1	34	65	54	105	100	200
<b>(mg)</b>						
500	5,4	10,5	25	55	80	160
300	5,4	10,5	25	55	70	140
200	5,4	10,5	25	55	60	120
100	5,4	10,5	25	55	50	100
50	5,4	10,5	14	34	42	85
30	5,4	10,5	14	34	38	75
20	5,4	10,5	14	34	35	70
10	5,4	10,5	14	34	30	60
5	5,4	10,5	14	34	28	55
3	5,4	10,5	14	34	26	52
2	5,4	10,5	14	34	25	50
1	5,4	10,5	14	34	25	50

Catatan Tidak lebih dari sepertiga anak timbangan kelas S-1 mempunyai kesalahan lebih dari setengah toleransi yang tertera pada tabel

**UJI BATAS MIKROBA<51>**

**Prosedur Umum**

**A. UJI ENUMERASI MIKROBA**

**Pendahuluan**

Bab ini menjelaskan tentang pengujian kuantitatif untuk bakteri mesofil dan kapang yang dapat tumbuh pada kondisi aerob.

Pengujian ini dirancang untuk menentukan suatu bahan atau sediaan memenuhi spesifikasi mutu secara mikrobiologi yang telah ditetapkan, termasuk jumlah sampel yang akan digunakan dan interpretasi hasil uji.

Metode ini tidak dapat diaplikasikan untuk produk yang mengandung mikroba viabel sebagai bahan aktif.

Prosedur mikrobiologi lain termasuk metode otomatisasi dapat digunakan setelah dibuktikan kesetaraannya dengan metode farmakope.

Pengujian dilakukan pada kondisi aseptik sebagai tindakan pencegahan untuk menghindari kontaminasi mikroba dari luar produk, tetapi tidak mempengaruhi mikroba yang diuji.

Jika produk mempunyai aktifitas antimikroba sebelum diuji lakukan netralisasi menggunakan inaktivator yang telah dibuktikan tidak toksik terhadap mikroba yang diuji.

**Metode Penghitungan**

Pengujian dilakukan dengan metode *Penyaringan Membran* atau salah satu *Metode Angka Lempeng* yang sesuai. Metode lain adalah *Angka Paling Mungkin (APM)* yang umum digunakan untuk produk dengan tingkat kontaminasi rendah.

Pemilihan metode pengujian berdasarkan beberapa faktor antara lain jenis produk yang diuji, persyaratan yang ditentukan dan ukuran sampel yang memadai untuk memperkirakan kesesuaian secara spesifik. Kesesuaian metode yang dipilih harus ditetapkan.

**Metode Penghitungan**

Pengujian dilakukan dengan metode *Penyaringan Membran* atau salah satu *Metode Angka Lempeng* yang sesuai. Metode lain adalah *Angka Paling Mungkin (APM)* yang umum digunakan untuk produk dengan tingkat kontaminasi rendah.

Pemilihan metode pengujian berdasarkan beberapa faktor antara lain jenis produk yang diuji, persyaratan yang ditentukan dan ukuran sampel yang memadai untuk memperkirakan kesesuaian secara spesifik. Kesesuaian metode yang dipilih harus ditetapkan.

**UJI FERTILITAS, KESESUAIAN METODE PENGHITUNGAN DAN KONTROL NEGATIF**

**Ketentuan Umum**

Kemampuan metode untuk mendeteksi mikroba pada produk harus ditetapkan.

Jika terjadi perubahan kinerja pengujian pada produk yang mempengaruhi hasil uji, maka harus dilakukan verifikasi terhadap kesesuaian metode.

**Penyiapan Galur Mikroba Uji**

Gunakan suspensi mikroba uji terstandar yang stabil. Galur mikroba uji dipelihara dengan *Teknik Biakan Lot Benih* tidak lebih dari 5 pasase dari master lot benih asli. Biakkan tiap galur bakteri dan kapang uji secara terpisah seperti tertera pada *Tabel 1*.

Untuk membuat suspensi mikroba uji gunakan *Dapar Natrium Klorida-Pepton pH 7,0* atau *Dapar fosfat pH 7,2*; untuk memisahkan spora *Aspergillus brasiliensis* tambahkan *polisorbit 80 P 0,05%* pada dapar. Gunakan dapar dalam waktu 2 jam atau dalam 24 jam jika

disimpan pada 2° - 8°. Setelah dipilih untuk menyiapkan suspensi segar sel vegetatif *A.brasiliensis* atau *B.subtilis*, siapkan suspensi spora yang stabil dan gunakan untuk inokulum dalam pengujian dengan volume yang sesuai. Suspensi spora yang stabil dipelihara pada 2° - 8° untuk jangka waktu yang tervalidasi.

**Kontrol Negatif**

Untuk membuktikan kesesuaian kondisi pengujian, kontrol negatif dilakukan menggunakan pengencer yang sesuai seperti pada penyiapan larutan uji. Tidak boleh terjadi pertumbuhan mikroba. Kontrol negatif dilakukan pada saat pengujian seperti tertera pada *Pengujian Sediaan*. Kegagalan kontrol negatif memerlukan investigasi.

**Fertilitas Media**

Uji setiap betas media jadi dan setiap betas media yang dibuat dari media kering atau dari bahan yang tertera pada formula.

Inokulasi sejumlah kecil mikroba (tidak lebih dari 100 koloni per plate) ke dalam Soybean-Casein Digest Broth, Soybean-Casein Digest Agar dan Sabouraud Dextrose Agar seperti tertera pada *Tabel 1*. Inkubasi sesuai dengan kondisi yang tertera pada *Tabel 1*.

Untuk media padat, pertumbuhan yang diperoleh tidak boleh berbeda dua kali dari nilai hitung inokulum standar. Pertumbuhan mikroba dan hasil uji fertilitas pada inokulum yang dibuat segar harus sebanding dengan betas sebelumnya. Media cair dapat digunakan jika pertumbuhan mikroba uji terlihat jelas dan sebanding dengan inokulum yang telah sesuai dengan hasil uji fertilitas betas media sebelumnya.

**Tabel 1.**  
**Penyiapan dan Penggunaan Mikroba Uji**

Mikroba Uji	Penyiapan Galur Uji	Fertilitas		Kesesuaian Metode Penghitungan dalam Sediaan	
		Penghitungan Total Mikroba Aerob	Penghitungan Total Kapang dan Khamir	Angka Lempeng Total Mikroba Aerob	Angka Kapang dan Khamir
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, atau NBRC 13276	Soybean-Casein Digest Agar atau Soybean-Casein Digest Broth, 30-35°, 18-24 jam	Soybean-Casein Digest Agar atau Soybean-Casein Digest Broth ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 3 hari		Soybean-Casein Digest Agar/APMSoybean-Casein Digest Broth ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 3 hari	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 atau NBRC 13275	Soybean-Casein Digest Agar atau Soybean-Casein Digest Broth, 30-35°, 18-24 jam	Soybean-Casein Digest Agar atau Soybean-Casein Digest Broth, ≤100 koloni 30-35°, ≤ 3 hari		Soybean-Casein Digest Agar/APM Soybean-Casein Digest Broth, ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 3 hari	

<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62 atau NBRC 3134	Soybean-Casein Digest Agar atau Soybean- Casein Digest Broth , 30-35°, 18-24 jam	Soybean-Casein Digest Agar atau Soybean- Casein Digest Broth ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 3 hari		Soybean-Casein Digest Agar/APM Soybean-Casein Digest Broth ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 3 hari	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 atau NBRC 1594	Sabouraud Dextrose Agar atau Sabouraud Dextrose Broth, 20-25°, 2-3 hari	Soybean-Casein Digest Agar ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 5 hari	Sabouraud Dextrose Agar ≤100 koloni, 20-25°, ≤ 5 hari	Soybean-Casein Digest Agar ≤100 koloni, 30-35°, ≤ 5 hari APM: tidak ada	Sabouraud Dextrose Agar ≤100 koloni, 20-25°, ≤ 5 hari
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, IMI 149007, IP 1431.83 atau NBRC 9455	Sabouraud Dextrose Agar atau Potato- Dextrose Agar 20-25°, 5-7 hari, atau hingga diperoleh sporulasi yang baik	Soybean-Casein Digest Agar, ≤100 koloni, 30-35°C ≤ 5 hari	Sabouraud Dextrose Agar, ≤100 koloni, 20-25°, ≤ 5 hari	Soybean-Casein Digest Agar, ≤100 koloni, 30-35°C, ≤ 5 hari APM: tidak ada	Sabouraud Dextrose Agar, ≤100 koloni, 20-25°, ≤ 5 hari

### Kesesuaian Metode Penghitungan Mikroba dalam Sediaan

#### PENYIAPAN SAMPEL

Metode penyiapan sampel disesuaikan dengan sifat fisik sediaan yang diuji. Jika dengan prosedur yang diuraikan di bawah ini tidak ada yang memuaskan maka harus dikembangkan prosedur lain yang sesuai.

**Sediaan Larut Air** Larutkan atau encerkan sediaan yang akan diuji (biasanya 1 dalam 10) dalam Larutan *Dapar Natrium Klorida-Pepton pH 7,0*, atau Larutan *Dapar Fosfat pH 7,2*, atau *Soybean-Casein Digest Broth* bila perlu atur pH hingga 6 - 8. Jika perlu encerkan dengan pelarut yang sama.

**Sediaan Bukan Lemak yang Tidak Larut dalam Air** Suspensikan atau encerkan sediaan yang akan diuji (biasanya 1 dalam 10) dalam Larutan *Dapar Natrium Klorida-Pepton pH 7,0*, atau Larutan *Dapar Fosfat pH 7,2*, atau *Soybean-Casein Digest Broth*. Dapat ditambahkan surfaktan seperti *Polisorbat 80* 1 g per L untuk membantu mensuspensikan bahan yang sulit dibasahi, jika perlu atur pH hingga 6 - 8. Jika perlu encerkan dengan pelarut yang sama.

**Sediaan Berlemak** Larutkan atau encerkan sediaan yang akan diuji dalam *isopropil miristat* steril yang disterilkan dengan cara penyaringan atau campurkan sediaan yang akan diuji dengan sesedikit mungkin surfaktan *Polisorbat 80 steril* atau surfaktan non-inhibitor lain steril, jika perlu hangatkan dalam tangas air pada suhu tidak lebih dari 40° atau pada kasus tertentu tidak lebih dari 45°. Aduk perlahan-lahan dan jika perlu pertahankan suhu dalam tangas air. Tambahkan secukupnya pengencer yang telah dihangatkan hingga diperoleh pengenceran 1 dalam 10.

Aduk perlahan-lahan dan jika perlu pertahankan suhu dengan waktu sesingkat mungkin untuk pembentukan emulsi. Lakukan pengenceran bertingkat dengan pengencer yang sesuai mengandung surfaktan *Polisorbat 80 P* dengan kadar sesuai atau surfaktan non-inhibitor lain steril.

**Cairan atau Padatan dalam bentuk Aerosol** Pindahkan seluruh isi sediaan dengan cara aseptik dalam penyaring membrane atau wadah steril yang sesuai untuk pengambilan sampel. Gunakan seluruh isi atau sejumlah tertentu sediaan dari tiap wadah yang diuji.

**"Transdermal Patches"** Lepaskan lapisan, letakkan bagian berpelekat menghadap ke atas pada lempeng kaca steril atau baki plastik. Agar tidak saling menempel tutup permukaan berpelekat dengan bahan berpori steril yang sesuai (misal kasa steril), kemudian pindahkan lembaran transdermal dalam wadah berisi pengencer yang mengandung *polisorbat 80 P* atau lesitin dengan volume yang sesuai. Kocok kuat selama tidak kurang dari 30 menit.

#### INOKULASI DAN PENGECERAN

Tambahkan suspensi mikroba uji pada sampel dan suspensi kontrol (pengencer tanpa sampel) seperti tertera di atas, untuk mendapatkan inokulum dengan jumlah tidak lebih dari 100 koloni. Volume suspensi inokulum tidak lebih dari 1% dari volume sediaan yang diencerkan.

Untuk menunjukkan perolehan kembali mikroba uji yang dapat diterima dari sediaan, faktor pengenceran terendah dari sampel yang disiapkan harus digunakan untuk pengujian. Jika hal tersebut tidak memungkinkan karena adanya aktifitas antimikroba atau kelarutan

sediaan yang rendah, perlu dikembangkan protokol uji yang sesuai. Jika sifat penghambatan pertumbuhan dari sampel tidak dapat dihindari, maka jumlah total suspensi mikroba uji mungkin harus ditambah setelah proses netralisasi dengan pengenceran atau penyaringan.

### NETRALISASI/PENGHILANGAN AKTIFITAS ANTIMIKROBA

Jumlah perolehan kembali mikroba uji dari sampel yang disuspensikan seperti tertera pada *Inokulasi dan Pengenceran*, diinkubasi mengikuti prosedur yang tertera pada *Perolehan kembali mikroba uji dalam sediaan*, dibandingkan dengan jumlah mikroba uji yang diperoleh kembali dari suspensi kontrol.

Jika pertumbuhan terhambat (dengan faktor reduksi lebih besar dari 2), maka lakukan perubahan prosedur untuk penghitungan khusus untuk meyakinkan validitas hasil. Beberapa contoh perubahan prosedur yaitu dengan :

- (1) Penambahan jumlah volume pengencer atau media biakan;
- (2) Penambahan larutan penetral khusus atau umum pada pengencer;
- (3) Penyaringan membran; atau
- (4) Kombinasi perubahan di atas.

**Zat Penetral** Zat penetral digunakan untuk menetralkan aktifitas senyawa antimikroba. (seperti tertera pada *Tabel 2*). Zat tersebut dapat ditambahkan pada pengencer atau media yang sesuai sebelum disterilkan. Jika digunakan metode tersebut, efikasi dan hilangnya toksisitas terhadap mikroba harus dibuktikan dengan melakukan penambahan zat penetral pada blangko tanpa sediaan.

**Tabel 2**  
**Zat Penetral Umum / Metode untuk**  
**Zat Penghambat**

Zat Penghambat	Zat Penetral Potensial/Metode
Glutaraldehyd, raksa	Natrium hidrogen sulfat (Natrium bisulfat)
Fenolik, alkohol, aldehid, sorbat	Pengenceran
Senyawa amonium kuarterner, parahidroksibenzoat (paraben), bis-biguanida	Lesitin
Senyawa amonium kuarterner, iodine, paraben	Polisorbat
Raksa	Tioglikolat
Raksa, halogen, aldehid	Tiosulfat
EDTA(edetat)	Ion Mg atau Ca

Jika tidak dapat ditemukan metode netralisasi yang sesuai, dapat diartikan bahwa kegagalan isolasi mikroba yang diinokulasikan disebabkan oleh aktivitas antimikroba dari sediaan. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan tidak terkontaminasi mikroba uji. Ulangi pengujian dengan pengenceran yang lebih tinggi yang sesuai dengan pertumbuhan mikroba uji dan kriteria penerimaan khusus.

### PEROLEHAN KEMBALI MIKROBA UJI DALAM SEDIAAN

Untuk tiap mikroba yang terdaftar, lakukan uji terpisah. Hanya mikroba yang ditambahkan yang dihitung.

**Penyaringan Membran** Gunakan penyaring membran dengan porositas tidak lebih dari 0,45 µm. Jenis bahan penyaring dipilih sedemikian rupa sehingga kemampuan menahan bakteri tidak dipengaruhi oleh kandungan sampel uji. Gunakan satu jenis membran penyaring untuk tiap mikroba uji.

Pindahkan sejumlah suspensi sampel yang disiapkan seperti tertera pada *Penyiapan Sampel, Inokulasi dan Pengenceran* serta *Netralisasi/ Penghilangan Aktifitas Antimikroba* (minimal mengandung 1 g sediaan, atau kurang jika diperkirakan jumlah koloni besar) saring segera dan bilas penyaring membran dengan sejumlah tertentu volume pengencer.

Untuk menentukan angka lempeng total mikroba aerob (ALT), pindahkan penyaring membran ke permukaan lempeng media Soybean-Casein Digest Agar (SCDA). Untuk menentukan Angka Kapang Khamir (AKK), pindahkan membran ke permukaan lempeng media Sabouraud Dextrose Agar. Inkubasi cawan seperti tertera pada *Tabel 1*. Lakukan pengamatan dan penghitungan.

**Metode Angka Lempeng Total** Metode angka lempeng total dilakukan setidaknya duplo untuk tiap media, dan hasil merupakan rata-rata hitung jumlah koloni.

**Metode Tuang** Gunakan cawan Petri berdiameter 9 cm, inokulasikan 1 ml suspensi sampel seperti tertera pada *Preparasi Penyiapan Sampel, Inokulasi dan Pengenceran* serta *Netralisasi/Penghilangan Aktifitas Antimikroba* ke dalam tiap cawan dan kemudian tambahkan 15 - 20 ml Soybean-Casein Digest Agar atau Sabouraud Dextrose Agar pada suhu tidak lebih dari 45°. Jika digunakan cawan Petri yang lebih besar, sesuaikan jumlah media. Lakukan duplo untuk tiap mikroba uji yang tercantum pada *Tabel 1*.

Inkubasi cawan seperti tertera pada *Tabel 1*. Hitung jumlah koloni rata-rata dari tiap cawan media dan jumlah koloni inokulum awal.

**Metode Sebar** Untuk lempeng media gunakan cawan Petri diameter 9 cm, diisi 15-10 ml Soybean-Casein Digest Agar atau Sabouraud Dextrose Agar pada suhu lebih kurang 45° pada tiap cawan Petri, dan biarkan memadat. Jika digunakan cawan Petri yang lebih besar, sesuaikan jumlah media. Keringkan permukaan lempeng media dalam lemari laminar-airflow atau dalam

inkubator. Lakukan duplo untuk tiap mikroba uji yang tertera pada *Tabel 1*. Inokulasikan 0,1 ml suspensi sampel yang disiapkan seperti pada *Penyiapan Sampel, Inokulasi dan Pengenceran* serta *Netralisasi/Penghilangan Aktifitas Antimikroba* dengan menyebarkan pada permukaan lempeng media. Inkubasi dan hitung jumlah koloni seperti telah dijelaskan pada *Metode Tuang*.

**Metode Angka Paling Mungkin (APM)** Presisi maupun akurasi Metode APM kurang dibandingkan dengan *Metode Penyaringan Membran* atau *Metode Angka Lempeng Total*. Hasilnya tidak dapat diandalkan terutama untuk penghitungan khamir. Metode APM dapat digunakan untuk menghitung ALT jika tidak ada metode lain yang sesuai dan jika telah ditetapkan sebagai metode pilihan.

Siapkan minimal tiga seri pengenceran ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) suspensi sediaan dengan cara seperti tertera pada *Penyiapan Sampel, Inokulasi dan Pengenceran* serta *Netralisasi/Penghilangan Aktifitas Antimikroba*. Dari tiap tingkat pengenceran suspensi sediaan inokulasikan masing-masing 1 ml ke dalam tiga seri tabung berisi 9 - 10 ml media Soybean-Casein Digest Broth. Jika perlu tambahkan surfaktan seperti *polisorbat 80 P* atau inaktivator zat antimikroba ke dalam media. Jika dibuat tiga tingkat pengenceran, maka diperoleh 9 tabung terinokulasi. Inkubasi semua tabung yang telah diinokulasi pada suhu 30° - 35° selama tidak lebih dari 3 hari. Jika terdapat kesulitan dalam membaca hasil, atau ketidakyakinan terhadap sifat dari sediaan yang diuji, lakukan sub-kultur pada media yang sama atau Soybean Casein Digestive Agar selama satu sampai 2 hari pada suhu yang sama, gunakan hasil ini. Dengan menggunakan *Tabel 3* dapat ditentukan angka paling mungkin (APM) per g atau ml sediaan uji.

**Tabel 3 Nilai Angka Paling Mungkin Mikroba**

Kombinasi Jumlah Tabung Pada Tiap Seri yang Menunjukkan Pertumbuhan			APM per g atau per mL sediaan	Batas Kepercayaan n 95%
Jumlah g atau mL sediaan per tabung				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	<3	0 - 9,4
0	0	1	3	0,1 - 9,5
0	1	0	3	0,1 - 10
0	1	1	6,1	1,2 - 17
0	2	0	6,2	1,2 - 17
0	3	0	9,4	3,5 - 35
1	0	0	3,6	0,2 - 17
1	0	1	7,2	1,2 - 17
1	0	2	11	4 - 35
1	1	0	7,4	1,3 - 20
1	1	1	11	4 - 35
1	2	0	11	4 - 35
1	2	1	15	5 - 38
1	3	0	16	5 - 38

2	0	0	9,2	1,5 - 3,5
2	0	1	14	4 - 35
2	0	2	20	5 - 38
2	1	0	15	4 - 38
2	1	1	20	5 - 38
2	1	2	27	9 - 94
2	2	0	21	5 - 40
2	2	1	28	9 - 94
2	2	2	35	9 - 94
2	3	0	29	9 - 94
2	3	1	36	9 - 94
3	0	0	23	5 - 94
3	0	1	38	9 - 104
3	0	2	64	16 - 181
3	1	0	43	9 - 181
3	1	1	75	17 - 199
3	1	2	120	30 - 360
3	1	3	160	30 - 380
3	2	0	93	18 - 360
3	2	1	150	30 - 380
3	2	0	93	18 - 360
3	2	2	210	30 - 400
3	2	3	290	90 - 990
3	3	0	240	40 - 990
3	3	1	460	90 - 1980
3	3	2	1100	200 - 4000
3	3	3	>1100	

## HASIL DAN INTERPRETASI

Jika ada kesesuaian antara *Metode Penyaringan Membran* atau *Metode Angka Lempeng*, hitung jumlah rata-rata mikroba uji dengan nilai penerimaan tidak lebih dari faktor 2 suspensi kontrol tanpa sediaan seperti tertera pada *Inokulasi dan Pengenceran*.

Jika ada kesesuaian dengan Metode APM nilai inokulum yang dihitung harus dalam batas kepercayaan 95% dari nilai suspensi kontrol.

Jika kriteria tersebut di atas tidak dapat dipenuhi untuk satu atau lebih mikroba yang diuji dengan metode tersebut di atas, maka metode dan kondisi uji harus mendekati kriteria yang digunakan untuk menguji sediaan.

## PENGUJIAN SEDIAAN

### Jumlah Sediaan yang Digunakan untuk Pengujian

Jika tidak dinyatakan lain gunakan 10 g atau 10 ml sediaan uji yang diambil dengan cara seperti di atas. Untuk sediaan cairan atau padatan dalam aerosol gunakan 10 wadah sampel, demikian juga untuk sampel "transdermal patches".

Jumlah yang diuji dapat dikurangi untuk sediaan dengan bahan aktif yang dibuat dalam tiap unit dosis (contoh tablet, kapsul, injeksi) kurang dari atau sama dengan 1 mg, atau jumlah per g atau ml (untuk penyiapan sampel tidak dalam unit dosis) kurang dari

1 mg. Dalam hal ini jumlah sampel yang diuji tidak kurang dari 10 unit dosis atau 10 g atau 10 ml sediaan.

Untuk bahan aktif dengan jumlah sampel terbatas atau ukuran betas sangat kecil (misalnya kurang dari 1000 ml atau 1000 g) jumlah sampel yang diuji harus 1% dari betas kecuali jumlah yang lebih kecil ditentukan atau dinyatakan dan disetujui.

Untuk sediaan dengan total keseluruhan betas kurang dari 200 unit (misal sampel untuk uji klinis), ukuran sampel dapat dikurangi menjadi dua unit atau satu unit jika kurang dari 100 unit.

Ambil sampel secara acak dari ruahan sediaan atau dari wadah yang tersedia pada saat pengerjaan. Untuk mendapatkan jumlah yang diperlukan, campurkan sejumlah isi wadah hingga mencapai jumlah sampel yang cukup.

### Pemeriksaan Sediaan

#### PENYARINGAN MEMBRAN

Gunakan alat penyaring yang dirancang sedemikian rupa sehingga memungkinkan pemindahan membran penyaring ke media. Siapkan sampel menggunakan metode yang tertera pada *Uji Fertilitas dan Kesesuaian Metode Penghitungan*, pindahkan sejumlah yang sesuai pada dua penyaring membran, saring segera. Bilas tiap penyaringan sesuai dengan prosedur.

Untuk menentukan ALT, pindahkan satu penyaring membran ke permukaan Soybean-Casein Digestic Agar. Untuk menentukan AKK, pindahkan satu penyaring membran yang lain ke permukaan Sabouraud Dextrose Agar. Inkubasi cawan Soybean-Casein Digest Agar pada suhu 30° - 35° selama 3 - 5 hari dan cawan Sabouraud Dextrose Agar pada suhu 20° - 25° selama 5 - 7 hari. Hitung jumlah koloni per g atau per ml sediaan.

Untuk pengujian sampel "*transdermal patches*", secara terpisah saring 10% dari volume larutan seperti tertera pada *Penyiapan Sampel*, gunakan dua penyaring membran steril. Pindahkan satu membran pada Soybean-Casein Digest Agar untuk ALT dan membran lainnya pada Sabouraud Dextrose Agar untuk AKK.

#### METODE ANGKA LEMPENG TOTAL

**Metode Tuang** Siapkan sampel menggunakan metode yang sesuai seperti tertera pada *Uji Fertilitas dan Kesesuaian Metode Penghitungan*. Siapkan untuk masing-masing media sekurang-kurangnya dua cawan Petri untuk tiap tingkat pengenceran. Inkubasi cawan Soybean-Casein Digest Agar pada suhu 30° - 35° selama 3 - 5 hari dan cawan Sabouraud Dextrose Agar pada suhu 20° - 25° selama 5-7 hari. Pilih cawan dari satu tingkat pengenceran dengan jumlah koloni tertinggi yang kurang dari 250 untuk ALT dan 50 koloni untuk AKK. Hitung jumlah rata-rata koloni dalam media biakan dan jumlah koloni per g atau per ml sediaan.

**Metode Sebar** Siapkan sampel dengan metode yang sesuai seperti tertera pada *Uji Fertilitas dan Kesesuaian Metode Penghitungan*. Siapkan sekurang-kurangnya dua

cawan Petri untuk tiap media dan tiap tingkat pengenceran. Untuk inkubasi dan penghitungan jumlah koloni, lakukan seperti tertera pada *Metode Tuang*.

#### METODE ANGKA PALING MUNGKIN (APM)

Siapkan dan encerkan sampel dengan metode sesuai seperti tertera pada *Uji Fertilitas dan Kesesuaian Metode Penghitungan*. Inkubasi semua tabung selama 3-5 hari pada suhu 30° - 35°. Jika perlu lakukan subkultur, gunakan metode yang sesuai. Catat jumlah tabung yang menunjukkan pertumbuhan mikroba pada tiap tingkat pengenceran. Tentukan APM mikroba per g atau ml sediaan berdasarkan *Tabel 3*.

#### Interpretasi Hasil

Angka Lempeng Total (ALT) dianggap sama dengan angka koloni yang ditemukan pada Soybean-Casein Digest Agar; jika koloni jamur ditemukan pada media ini, dihitung sebagai bagian dari jumlah ALT. Total jumlah kapang dan khamir (AKK) dianggap sama dengan jumlah koloni yang ditemukan pada Sabouraud Dextrose Agar; jika koloni bakteri ditemukan pada media ini, maka dihitung sebagai bagian dari AKK. Jika AKK diperkirakan melebihi kriteria penerimaan berdasarkan pertumbuhan bakteri, dapat digunakan Sabouraud Dextrose Agar yang mengandung antibiotik. Jika penghitungan dilakukan menggunakan metode APM, maka nilai penghitungan yang diperoleh merupakan angka total mikroba aerobik (ALT).

Jika telah ditetapkan kriteria penerimaan untuk mutu mikrobiologi, maka diinterpretasikan sebagai berikut:

- 10<sup>1</sup> koloni: maksimal penghitungan yang dapat diterima = 20;
- 10<sup>2</sup> koloni: maksimal penghitungan yang dapat diterima = 200;
- 10<sup>3</sup> koloni: maksimal penghitungan yang dapat diterima = 2000; dan seterusnya.

Larutan dan media yang disarankan tertera pada *Uji Mikroba Khusus*.

### B. PENGUJIAN MIKROBA SPESIFIK

#### PENDAHULUAN

Pada Bab ini akan dijelaskan tentang *Uji Batas Mikroba Spesifik* yang mungkin terdeteksi dengan kondisi dan metode yang sesuai.

Metode uji dirancang untuk menetapkan suatu produk memenuhi kriteria mutu secara mikrobiologi. Untuk pelaksanaan pengujian ikuti petunjuk di bawah ini, termasuk jumlah sampel dan interpretasi hasil uji.

Metode pilihan termasuk metode otomatis dimungkinkan untuk digunakan setelah dibuktikan kesetaraannya dengan metode farmakope.



**PROSEDUR UMUM**

Penyiapan sampel dilakukan seperti tertera pada *Uji enumerasi mikroba*.

Jika produk yang akan diuji memiliki aktifitas antimikroba, sebaiknya sifat antimikroba dihilangkan atau dinetralkan seperti tertera pada *Uji enumerasi mikroba*.

Jika digunakan bahan aktif permukaan (surfaktan) untuk penyiapan sampel, harus dapat dibuktikan sesuai dan tidak toksik bagi mikroba dan sesuai dengan inaktivator yang digunakan dalam produk yang diuji seperti tertera pada *Uji enumerasi mikroba*.

**FERTILITAS DAN DAYA HAMBAT MEDIA, KESESUAIAN UJI DAN KONTROL NEGATIF**

Kemampuan metode deteksi mikroba yang terdapat dalam produk yang diuji harus ditetapkan. Jika ada perubahan kemampuan dalam pengujian atau ada perubahan dalam produk yang dapat mempengaruhi hasil uji, harus dilakukan konfirmasi metode.

**Penyiapan Galur Uji**

Gunakan suspensi galur uji baku yang stabil. Galur uji dipelihara dengan *Teknik Biakan Lot Benih* tidak lebih dari 5 pasase dari master lot benih asli.

**MIKROBA AEROB**

Biakkan masing-masing galur bakteri di bawah ini, pisahkan masing-masing dalam wadah berisi media *Soybean-Casein Digest Broth* atau *Soybean-Casein Digest Agar*, pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam. Biakkan galur uji *Candida albicans* dalam *Sabouraud Dextrose Agar* atau *Sabouraud Dextrose Broth*, pada suhu 20° - 25° selama 2 - 3 hari.

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 atau NBRC13276
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 atau NBRC 13275
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 atau NBRC 3972
<i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> atau sebagai pilihan lain	ATCC 14028
<i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> serovar <i>Abony</i>	NBRC 100797, NCTC 6017 atau CIP 80.39
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 atau NBRC 1594

Gunakan *Dapar Natrium Klorida-Pepton pH 7* atau *Dapar Fosfat pH 7,2* untuk membuat suspensi uji. Gunakan suspensi tersebut dalam waktu 2 jam atau jika digunakan sampai 24 jam harus disimpan pada suhu 2° - 8°.

**CLOSTRIDIA**

Gunakan *Clostridium sporogenes* seperti ATCC 11437 (NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651) atau ATCC 19404 (NCTC 532 atau CIP 79.3). Biakkan galur uji *Clostridia* dalam keadaan anaerob pada *Reinforce Medium for Clostridia* pada suhu 30° - 35° selama 24 - 48 jam. Sebagai pilihan lain, siapkan dan encerkan sel vegetatif dalam bentuk suspensi segar. Suspensi spora stabil pada suhu 2° - 8° selama periode yang tervalidasi.

**Kontrol Negatif**

Untuk verifikasi kesesuaian kondisi pengujian, kontrol negatif dilakukan menggunakan pelarut yang sesuai menggantikan sediaan uji. Tidak boleh terjadi pertumbuhan mikroba. Kontrol negatif juga dilakukan pada saat dilakukan uji terhadap sediaan seperti tertera pada *Pengujian Sediaan*. Apabila terjadi kegagalan pada kontrol negatif diperlukan investigasi.

**Fertilitas dan Daya hambat Media**

Uji setiap betas media siap-pakai, media yang disiapkan dari media kering atau dari komponen media. Verifikasi sifat seperti tertera pada *Tabel 1*.

**Uji Fertilitas Media Cair** Inokulasikan ke dalam media yang sesuai, mikroba uji dalam jumlah sedikit (tidak lebih dari 100 koloni), inkubasi pada suhu tertentu, tidak lebih dari periode terpendek yang tertera pada prosedur uji. Untuk media cair, pertumbuhan mikroba uji harus terlihat jelas dan harus sama dengan inokulum yang telah sesuai dengan hasil uji fertilitas betas media sebelumnya.

**Uji Fertilitas Media Padat** Gunakan *Metode Sebar* seperti tertera pada *Metode Tuang* dalam *Uji enumerasi mikroba*. Inokulasikan masing-masing cawan dengan sejumlah mikroba uji yang sesuai (tidak lebih dari 100 koloni). Inkubasikan pada suhu tertentu tidak lebih dari periode terpendek seperti tertera dalam prosedur uji. Pertumbuhan mikroba sama dengan inokulum yang telah sesuai dengan hasil uji fertilitas betas media sebelumnya.

**Uji Daya Hambat Media Cair atau Padat** Inokulasikan sejumlah mikroba uji paling sedikit 100 koloni pada sejumlah media yang diinkubasi pada suhu tertentu tidak kurang dari periode terpanjang seperti tertera pada *Prosedur uji*. Tidak boleh ada pertumbuhan mikroba uji.

**"Test for Indicative Properties"** Gunakan *Metode Sebar* seperti tertera pada *Metode Tuang* dalam *Uji enumerasi mikroba*. Inokulasikan masing-masing cawan dengan mikroba sesuai (tidak boleh lebih dari 100 koloni). Inkubasikan pada suhu tertentu dalam batas uji.

Ciri koloni mikroba uji harus terlihat jelas dan harus sama dengan inokulum yang sebelumnya.

### Kesesuaian Metode Uji

Untuk masing-masing sediaan baru yang diuji lakukan penyiapan sampel, seperti tertera pada *Pengujian Sediaan*. Pada saat inokulasi suspensi sampel, tambahkan masing-masing galur mikroba uji tidak lebih dari 100 koloni dalam media pertumbuhan yang telah ditentukan.

Lakukan uji seperti tertera pada *Pengujian Sediaan* dengan masa inkubasi terpendek.

Mikroba uji spesifik harus dapat dideteksi dengan reaksi dan sifat-sifat seperti dijelaskan dalam *Pengujian Sediaan*.

Modifikasi prosedur uji untuk menetralkan aktifitas antimikroba harus dilakukan (tertera pada *Netralisasi/Penghilangan Aktifitas Antimikroba* dalam *Uji Enumerasi Mikroba*).

Untuk sediaan yang telah diberi penetral aktivitas antimikroba dengan mengacu pada prosedur yang sesuai, dan ternyata aktivitas antimikroba tidak dapat dinetralkan, maka diasumsikan bahwa tidak ada mikroba yang terhambat dalam sediaan.

Tabel 1 Uji Fertilitas, Penghambatan dan "Test for Indicative Properties"

Uji/Media	Sifat	Mikroba Uji
<b>Uji Toleransi Empedu Bakteri Gram-negative</b>		
Media Cair Pengkaya <i>Enterobacteriaceae</i> Mossel	Fertilitas	<i>E. coli</i>
	Daya hambat	<i>P.aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>
<i>Violet Red Bile Glucose Agar</i>	Fertilitas + indikatif	<i>E.coli</i> <i>P.aeruginosa</i>
<b>Uji <i>Escherichia coli</i></b>		
<i>MacConkey Broth</i>	Fertilitas	<i>E.coli</i>
	Daya hambat	<i>S. aureus</i>
<i>MacConkey Agar</i>	Fertilitas + indikatif	<i>E.coli</i>
<b>Uji <i>Salmonella</i></b>		
<i>Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth</i>	Fertilitas	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>entericaserovar Typhimurium</i> atau <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>entericaserovar Abony</i>
	Daya hambat	<i>S.aureus</i>
	Fertilitas + indikatif	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>entericaserovar Typhimurium</i> atau <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>entericaserovar Abony</i>
<i>Xylose Lysine Deoxycholate Agar</i>		
<b>Uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>		
<i>Cetrimide Agar</i>	Fertilitas	<i>P.aeruginosa</i>
	Daya hambat	<i>E.coli</i>
<b>Uji <i>Staphylococcus aureus</i></b>		
<i>Mannitol Salt Agar</i>	Fertilitas + indikatif	<i>S.aureus</i>
	Daya hambat	<i>E.coli</i>
<b>Uji Clostridia</b>		
<i>Reinforced Medium for Clostridia</i>	Fertilitas	<i>Cl.sporogenes</i>
<i>Columbia Agar</i>	Fertilitas	<i>Cl.sporogenes</i>
<b>Uji <i>Candida albicans</i></b>		
<i>Sabouraud Dextrose Broth</i>	Fertilitas	<i>C.albicans</i>
<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>	Fertilitas + indikatif	<i>C.albicans</i>

**PENGUJIAN SEDIAAN**  
**Uji Toleransi Empedu Bakteri Gram-negatif**

**Penyiapan sampel dan pra-inkubasi** Siapkan sampel 1 dalam 10 volume pengencer dimana tidak lebih dari 1 g sampel diuji seperti tertera pada *Uji Enumerasi Mikroba*, gunakan *Soybean-Casein Digest Broth* sebagai pengencer, campur, dan inkubasi pada suhu 20° - 25° selama waktu yang cukup untuk menumbuhkan bakteri tetapi tidak cukup untuk memicu multiplikasi mikroba (biasanya 2 jam tapi tidak boleh lebih dari 5 jam).

**Uji negatif** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan 1 g sediaan seperti tertera pada *Penyiapan Sampel dan Pra-inkubasi*, dalam media cair pengkaya *Enterobacteriaceae Mossel*. Inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 4 - 48 jam. Lakukan subkultur pada cawan *Violet Red Bile Glucose Agar*. Inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam. Sampel memenuhi syarat bila tidak ada pertumbuhan koloni.

**Uji Kuantitatif**

**Seleksi dan subkultur** Inokulasi sejumlah suspensi dengan penyiapan sampel langsung ke dalam media *Enterobacteria Enrichment Broth Mossel* Encerkan suspensi sampel hingga mengandung 0,1 g, 0,01 g dan 0,001 g (atau 0,1 ml, 0,01 ml dan 0,001 ml), dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 24 - 48 jam. Lakukan subkultur dengan menginokulasi masing-masing biakan pada cawan media *Violet Red Bile Glucose Agar*, inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

**Interpretasi** Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni. Catat hasil positif pada jumlah terkecil sediaan dan hasil negatif pada jumlah terbesar sediaan. Tentukan Angka Paling Mungkin (APM) dari bakteri menggunakan *Tabel 2*.

**Tabel 2 Interpretasi Hasil**

Hasil dari masing-masing jumlah sediaan			APM / g atau /ml sediaan
0,1 g atau 0,1 ml	0,01 g atau 0,01 ml	0,001 g atau 0,001 ml	
+	+	+	Lebih dari 10 <sup>3</sup>
+	+	-	Kurang dari 10 <sup>3</sup> dan lebih dari 10 <sup>2</sup>
+	-	-	Kurang dari 10 <sup>2</sup> dan lebih dari 10
-	-	-	Kurang dari 10

*Escherichia coli*

**Penyiapan sampel dan pra inkubasi** Siapkan sampel menggunakan 1 dalam 10 volume pengencer dimana tidak kurang dari 1 g sediaan diuji seperti tertera pada *Uji Enumerasi Mikroba*. Gunakan 10 ml atau sejumlah sesuai sampai 1 g atau 1 ml, inokulasi ke dalam media *Soybean-Casein Digest Broth*, dengan jumlah seperti tertera dalam

*Kesesuaian Metode Uji*, campur dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

**Seleksi dan Subkultur** Kocok wadah, pindahkan 1 ml biakan *Soybean-Casein Digest Broth* ke dalam 100 ml *MacConkey Broth*, inkubasi pada suhu 42° - 44° selama 24 - 48 jam. Inokulasi biakan *MacConkey Broth* pada cawan media *Mac Conkey Agar*, suhu 30° - 35° selama 18 - 72 jam.

**Interpretasi** Pertumbuhan koloni menunjukkan adanya *E.Coli* yang dikonfirmasi dengan uji identifikasi.

Sediaan memenuhi syarat uji jika tidak ada koloni yang tumbuh atau jika hasil uji konfirmasi identifikasi negatif.

*Salmonella*

**Penyiapan sampel dan Pra-inkubasi** Siapkan sediaan uji seperti tertera pada *Uji Enumerasi Mikroba*. Gunakan jumlah yang sesuai, tidak kurang dari 10 g atau 10 ml, inokulasi ke dalam sejumlah volume *Soybean-Casein Digest Broth* yang sesuai (seperti tertera pada *Kesesuaian Metode Uji*), campur dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

**Seleksi dan Subkultur** Pindahkan 0,1 ml biakan *Soybean-Casein Digest Broth* ke dalam 10 ml media *Rappaport Vasiliadis Salmonella Enrichment Broth*, inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam. Subkultur pada cawan *Xylose Lysine Deoxycholate Agar*, inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 48 jam.

**Interpretasi** Pertumbuhan koloni berwarna merah, dengan atau tanpa titik hitam di bagian tengah menunjukkan karakteristik *Salmonella* yang dikonfirmasi dengan uji identifikasi.

Sediaan memenuhi syarat jika koloni yang tumbuh tidak seperti diuraikan di atas atau jika hasil uji konfirmasi identifikasi negatif.

*Pseudomonas aeruginosa*

**Penyiapan Sampel dan Pra-Inkubasi** Siapkan sampel menggunakan 1 dalam 10 volume pengencer dimana tidak lebih dari 1 g sediaan diuji seperti tertera pada *Uji Enumerasi Mikroba*. Gunakan 10 ml atau jumlah yang sesuai dengan 1 g atau 1 ml, inokulasi ke dalam media *Soybean-Casein Digest Broth*, dengan jumlah yang sesuai (seperti tertera pada *Kesesuaian Metode Uji*), campur dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

Untuk menguji "transdermal patches", gunakan membran penyaring steril, saring sejumlah volume sampel yang sesuai dengan satu "patch" (lihat "Transdermal Patches" pada *Penyiapan Sampel dalam Uji Enumerasi Mikroba*) dan masukkan penyaring membran ke dalam 100 ml media *Soybean-Casein Digest Broth*. Inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

**Seleksi dan Subkultur** Lakukan subkultur pada cawan media *Cetrimide Agar* dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 72 jam.

**Interpretasi** Pertumbuhan koloni menunjukkan adanya *P.aeruginosa* yang dikonfirmasi dengan uji identifikasi.

Sediaan memenuhi syarat jika koloni yang tumbuh tidak seperti diuraikan di atas atau jika hasil uji konfirmasi identifikasi negatif.

### *Staphylococcus aureus*

**Penyiapan Sampel dan Pra-Inkubasi** Siapkan sampel menggunakan 1 dalam 10 volume pengencer dimana tidak kurang dari 1 g sediaan diuji seperti tertera pada *Uji Enumerasi Mikroba*. Gunakan 10 ml atau jumlah yang sesuai dengan 1 g atau 1 ml, inokulasi ke dalam media *Soybean-Casein Digest Broth*, dengan jumlah yang sesuai (seperti tertera pada *Kesesuaian Metode Uji*) campur dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

Untuk menguji "transdermal patches", gunakan membran penyaring steril, saring sejumlah volume sampel yang sesuai dengan satu "patch" (lihat "Transdermal Patches" pada *Penyiapan Sampel* dalam *Uji Enumerasi Mikroba*) dan masukkan penyaring membran ke dalam 100 ml media *Soybean-Casein Digest Broth*. Inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 24 jam.

**Seleksi dan Subkultur** Lakukan subkultur pada cawan media *Mannitol Salt Agar* dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 - 72 jam.

**Interpretasi** Pertumbuhan koloni berwarna kuning atau putih dikelilingi zona kuning menunjukkan adanya *S.aureus* yang di konfirmasi dengan uji identifikasi.

Sediaan memenuhi syarat uji jika pertumbuhan koloni tidak seperti diuraikan atau jika hasil uji konfirmasi identifikasi negatif.

### *Clostridia*

**Penyiapan Sampel dan Perlakuan Panas** Siapkan sampel menggunakan 1 dalam 10 volume pengencer (dengan total volume minimum 20 ml) tidak kurang dari 2 g atau 2 ml sediaan untuk diuji seperti tertera pada *Uji Enumerasi Mikroba*. Pisahkan sampel menjadi dua bagian, sekurang-kurangnya 10 ml. Panaskan satu bagian pada 80° selama 10 menit, dinginkan dengan cepat. Satu bagian lainnya tidak dipanaskan.

**Seleksi dan Subkultur** Gunakan 10 ml atau jumlah yang sesuai dengan 1 g atau 1 ml kemudian keduanya diinokulasi ke dalam sejumlah *Reinforced Medium for Clostridia* yang sesuai, (seperti tertera pada *Kesesuaian Metode Uji*). Inkubasi pada kondisi anaerob pada suhu 30° - 35° selama 48 - 72 jam.

**Interpretasi** Pertumbuhan koloni anaerob bentuk batang (dengan atau tanpa endospora) memberikan reaksi katalase negatif, menunjukkan adanya *Clostridia* yang dikonfirmasi dengan uji identifikasi.

Sediaan memenuhi syarat uji jika tidak ada koloni yang tumbuh atau jika hasil uji konfirmasi identifikasi negatif.

### *Candida albicans*

**Penyiapan Sampel dan Pra-Inkubasi** Siapkan sediaan yang akan diuji seperti tertera pada *Uji Endumerasi Mikroba*. Gunakan 10 ml atau jumlah yang sesuai tidak kurang dari 1 g atau 1 ml, inokulasi ke dalam 100 ml media *Sabouraud Dextrose Broth*, campur dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 3 - 5 hari.

**Seleksi dan Subkultur** Lakukan subkultur pada cawan *Sabouraud Dextrose Agar*, dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 24 - 48 jam.

**Interpretasi** Adanya pertumbuhan koloni berwarna putih menunjukkan adanya *C.albicans* yang dikonfirmasi dengan uji identifikasi.

Sediaan memenuhi syarat uji jika tidak ada pertumbuhan koloni seperti diuraikan di atas atau jika hasil uji konfirmasi identifikasi negatif.

### LARUTAN DAN MEDIA KULTUR YANG DISARANKAN

[Catatan Bagian ini sebagai informasi.]

Larutan dan media kultur berikut memenuhi tujuan seperti tertera pada uji kontaminasi mikroba dalam Farmakope. Media lain mungkin dapat digunakan setelah kesesuaiannya dibuktikan.

**Larutan Dapar Persediaan** Timbang 34 g *Kalium Dihidrogen Fosfat P*, masukkan ke dalam labu tentukur 1000 ml, larutkan dalam 500 ml air, atur pH menjadi 7,2±0,2, tambahkan air murni sampai tanda, dan campur homogen.

Masukkan ke dalam wadah, dan sterilisasi. Simpan pada suhu 2° - 8°.

**Larutan Dapar Fosfat pH 7,2** Siapkan campuran air murni dan *Larutan Dapar persediaan* (800:1 v/v), kemudian sterilisasi.

Larutan Dapar Natrium Klorida – Pepton pH 7,0	
Kalium dihidrogen fosfat	3,6 g
Dinatrium hidrogen fosfat dihidrat	7,2 g (setara 0,067 M fosfat)
Natrium klorida	4,3 g
Pepton (daging atau kasein)	1,0 g
Air murni	1000 ml

Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Soybean-Casein Digest Broth</i>	
<i>Pancreatic digest of casein</i>	17,0 g
<i>Papaic digest of soybean</i>	3,0 g
Natrium klorida	5,0 g
Dibasa hidrogen fosfat	2,5 g
Glukosa monohidrat	2,5 g
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi 7,3±0,2 pada suhu 25°. Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Soybean-Casein Digest Agar</i>	
<i>Pancreatic digest of casein</i>	15,0 g
<i>Papaic digest of soybean</i>	5,0 g
Natrium klorida	5,0 g
Agar	15,0 g
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,3 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>	
Dekstrosa	40,0 g
<i>Mixture peptic digest of animal tissue and pancreatic digest of casein (1:1)</i>	10,0 g
Agar	15,0 g
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $5,6 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Potato Dextrose Agar</i>	
<i>Infusion from potatoes</i>	200 g
Dekstrosa	20,0 g
Agar	15,0 g
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $5,6 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Sabouraud Dextrose Broth</i>	
Dekstrosa	20,0 g
<i>Mixture Peptic Digest of Animal Tissue and Pancreatic Digest of Casein (1:1)</i>	10,0 g
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $5,6 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Enterobacteria Enrichment Broth Mossel</i>	
<i>Pancreatic digest of gelatin</i>	10,0 g
Glukosa monohidrat	5,0 g
<i>Dehydrated ox bile</i>	20,0 g
Kalium dihidrogen fosfat	2,0 g
Dinatrium hydrogen fosfat dihidrat	8,0 g
<i>Brilliant green</i>	15 mg
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,2 \pm 0,2$  pada  $25^\circ$ . Panaskan hingga  $100^\circ$  selama 30 menit dan dinginkan segera.

<i>Violet Red Bile Glucose Agar</i>	
<i>Yeast extract</i>	3,0 g
<i>Pancreatic digest of gelatin</i>	7,0 g
<i>Bile salts</i>	1,5 g

Natrium klorida	5,0 g
Glukosa monohidrat	10,0 g
Agar	15,0 g
Merah netral	30 mg
Kristal violet	2 mg
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,4 \pm 0,2$  pada  $25^\circ$ . Panaskan hingga mendidih, jangan dipanaskan menggunakan otoklaf.

<i>MacConkey Broth</i>	
<i>Pancreatic digest of gelatin</i>	20,0 g
Laktosa monohidrat	10,0 g
<i>Dehydrated ox bile</i>	5,0 g
Ungu bromokresol	10 mg
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,3 \pm 0,2$  pada  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>MacConkey Agar</i>	
<i>Pancreatic digest of gelatin</i>	17,0 g
<i>Peptones (meat and casein)</i>	3,0 g
Laktosa monohidrat	10,0 g
Natrium klorida	5,0 g
<i>Bile salts</i>	1,5 g
Agar	13,5 g
Merah netral	30,0 mg
Kristal violet	1 mg
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,1 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Didihkan selama 1 menit dengan pengadukan konstan, kemudian sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth</i>	
<i>Soya peptone</i>	4,5 g
Magnesium klorida heksahidrat	29,0 g
Natrium klorida	8,0 g
Dikalium fosfat	0,4 g
Kalium dihidrogen fosfat	0,6 g
Malachite green	0,036 g
Air murni	1000 ml

Larutkan dalam keadaan agak hangat. Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi, pada suhu tidak lebih dari  $115^\circ$ . Setelah disterilisasi menggunakan otoklaf pH menjadi  $5,2 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ .

<i>Xylose Lysine Deoxycholate Agar</i>	
<i>Xylose</i>	3,5 g
<i>L-lysine</i>	5,0 g
Laktosa monohidrat	7,5 g
Sukrosa	7,5 g
Natrium klorida	5,0 g
<i>Yeast extract</i>	3,0 g
Merah fenol	80 mg
Agar	13,5 g
Sodium deoksikolat	2,5 g

Sodium tiosulfat	6,8 g
Besi (III) ammonium sitrat	0,8 g
Air murni	1000 ml

Atur pH sehingga setelah pemanasan menjadi  $7,4 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Panaskan hingga mendidih, dinginkan hingga  $50^\circ$ , tuang ke dalam cawan Petri. Jangan disterilisasi menggunakan otoklaf.

**ANTIMIKRO B**

<i>Cetrimide Agar</i>	
<i>Pancreatic digest of gelatin</i>	20,0 g
Magnesium klorida	1,4 g
Dikalium sulfat	10,0 g
Setrimid	0,3 g
Agar	13,6 g
Air murni	1000 ml
Gliserol	10,0 ml

Panaskan hingga mendidih selama 1 menit dengan pengocokan. Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,2 \pm 0,2$  pada  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Mannitol Salt Agar</i>	
<i>Pancreatic digest of casein</i>	5,0 g
<i>Peptic digest of animal tissue</i>	5,0 g
<i>Beef extract</i>	1,0 g
D-manitol	10,0 g
Natrium klorida	75,0 g
Agar	15,0 g
Merah fenol	0,025 g
Air murni	1000 ml

Panaskan hingga mendidih selama 1 menit dengan pengocokan. Atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,4 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Reinforced Medium for Clostridia</i>	
<i>Beef extract</i>	10,0 g
Pepton	10,0 g
<i>Yeast extract</i>	3,0 g
<i>Soluble starch</i>	1,0 g
Glukosa monohidrat	5,0 g
Sistein hidroklorida	0,5 g
Natrium klorida	5,0 g
Natrium asetat	3,0 g
Agar	0,5 g
Air murni	1000 ml

Basahi dan larutkan agar menggunakan air murni, dan panaskan hingga mendidih dengan pengadukan secara terus menerus. Jika diperlukan, atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $6,8 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi.

<i>Columbia Agar</i>	
<i>Pancreatic digest of casein</i>	10,0 g
<i>Meat peptic digest</i>	5,0 g
<i>Heart pancreatic digest</i>	3,0 g
<i>Yeast extract</i>	5,0 g
<i>Maized starch</i>	1,0 g
Natrium klorida	5,0 g
Agar, tergantung pada daya pembentukan gel	10,0-15,0 g
Air murni	1000 ml

Basahi dan larutkan agar menggunakan air murni, dan panaskan hingga mendidih dengan pengadukan secara terus menerus. Jika diperlukan, atur pH sehingga setelah sterilisasi menjadi  $7,3 \pm 0,2$  pada suhu  $25^\circ$ . Sterilisasi menggunakan otoklaf dengan siklus yang tervalidasi. Dinginkan hingga mencapai  $45-50^\circ$ , bila perlu tambahkan gentamisin sulfat yang setara dengan 20 mg gentamisin basa, dan tuang ke dalam cawan Petri.

**UJI EFEKTIFITAS PENGAWET <61>**

Pengawet adalah zat antimikroba yang ditambahkan pada sediaan non-steril untuk melindungi sediaan terhadap pertumbuhan mikroba yang ada atau mikroba yang masuk secara tidak sengaja selama ataupun sesudah proses produksi. Dalam sediaan steril dosis ganda, pengawet ditambahkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang mungkin masuk pada pengambilan berulang.

Pengawet tidak boleh digunakan sebagai pengganti cara produksi yang baik atau semata-mata untuk menurunkan populasi mikroba "viabel" dari produk tidak steril atau mengontrol "bioburden" pra-sterilisasi dari formulasi sediaan dosis ganda pada waktu diproduksi. Pengawet sesuai bentuk sediaan dalam farmakope memenuhi syarat untuk *Bahan Tambahan* dalam *Ketentuan Umum*.

Semua bahan antimikroba yang digunakan pada dasarnya toksik. Untuk melindungi konsumen secara maksimum, kadar pengawet yang efektif dalam kemasan akhir produk hendaknya di bawah tingkat toksik bagi manusia.

Kadar pengawet yang ditambahkan dapat dikurangi apabila bahan aktif dalam formulasi secara intrinsik mempunyai aktivitas antimikroba. Untuk semua produk injeksi dosis ganda atau produk lain yang mengandung pengawet, harus menunjukkan efektivitas antimikroba baik sebagai sifat bawaan dalam produk maupun yang dibuat dengan penambahan pengawet. Efektivitas antimikroba juga harus ditunjukkan untuk semua produk dosis ganda sediaan topikal, oral dan sediaan lain seperti tetes mata, telinga, hidung, irigasi dan cairan dialisis.

Pengujian berikut dimaksudkan untuk menunjukkan efektivitas pengawet. Penambahan pengawet harus dinyatakan pada etiket. Pengujian dan kriteria untuk efektivitas berlaku hanya pada produk di dalam wadah asli belum dibuka yang didistribusikan oleh produsen.

### KATEGORI SEDIAAN

Untuk tujuan pengujian, sediaan dibagi menjadi 4 kategori. Kriteria efektifitas antimikroba untuk sediaan tergantung cara pemberiannya.

Tabel 1 Kategori Sediaan

Kategori	Uraian Sediaan
1	Injeksi, sediaan parenteral lain termasuk emulsi, sediaan tetes telinga, sediaan steril tetes hidung, dan sediaan optalmik yang dibuat dengan dasar atau pembawa air.
2	Sediaan topikal yang dibuat dengan dasar atau pembawa air, sediaan tetes hidung non-steril, dan emulsi, termasuk sediaan yang dioleskan ke membran mukosa.
3	Sediaan oral selain antasida, dibuat dengan dasar atau pembawa air.
4	Antasida yang dibuat dengan pembawa air.

### MIKROBA UJI

Gunakan biakan mikroba berikut: *Candida albicans* (ATCC No. 10231), *Aspergillus niger* (ATCC No. 16404), *Escherichia coli* (ATCC No. 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC No. 9027) dan *Staphylococcus aureus* (ATCC No. 6538). Mikroba hidup yang digunakan untuk pengujian tidak boleh lebih dari lima pasase dari biakan ATCC asli. Untuk tujuan

pengujian, satu pasase didefinisikan sebagai transfer mikroba dari biakan yang ditetapkan, ke media segar. Semua transfer dihitung. Dalam kondisi mikroba yang dipelihara dengan teknik lot benih, maka setiap siklus pembekuan, pencairan, dan penumbuhan kembali dalam media segar, ditetapkan sebagai satu transfer. Teknik lot benih hendaknya digunakan untuk penyimpanan kultur jangka panjang. Biakan yang diterima dari ATCC harus diresusitasi sesuai prosedur. Jika ditumbuhkan dalam media cair, sel diendapkan dengan cara sentrifus. Suspensikan kembali dalam media cair segar (1:20) dan tambahkan dengan volume sama campuran gliserol 20% (v/v dalam air) steril. Sel yang ditumbuhkan dalam media agar dipanen dari permukaan media ke dalam media cair gliserol 10%. Bagikan suspensi ini dalam jumlah kecil ke dalam vial steril. Simpan vial dalam nitrogen cair atau dalam "freezer" mekanik pada suhu tidak lebih dari -50°. Jika vial lot benih segar diperlukan, vial ini dapat digunakan untuk menginokulasi serangkaian kultur kerja. Kultur kerja ini kemudian dapat digunakan secara berkala (setiap hari untuk bakteri dan khamir) untuk memulai kultur inokula.

### MEDIA

Seluruh media yang digunakan untuk pengujian harus diuji fertilitas. Gunakan mikroba seperti tertera pada *Mikroba uji*.

### PERSIAPAN INOKULA

Persiapan sebelum pengujian, inokulasikan masing-masing mikroba spesifik dari stok-biakan segar pada permukaan media agar yang sesuai.

Tabel 2 Kondisi Biakan Pentuk Penyiapan Inokula

Mikroba	Media yang sesuai	Suhu Inkubasi	Waktu Inkubasi Inokula	Waktu Inkubasi Rekoverti Mikroba
<i>Escherichia coli</i> (ATCC No.8739)	Soybean-Casein Digest Broth; Soybean-Casein Digest Agar	32,5°±2,5°	18 – 24 jam	3 – 5 hari
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC No. 9027)	Soybean-Casein Digest Broth; Soybean-Casein Digest Agar	32,5°±2,5°	18 – 24 jam	3 – 5 hari
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC No. 6538)	Soybean-Casein Digest Broth; Soybean-Casein Digest Agar	32,5°±2,5°	18 – 24 jam	3 – 5 hari
<i>Candida albicans</i> (ATCC No. 10231)	Sabouraud Dextrose Agar; Sabouraud Dextrose Broth	22,5°±2,5°	44 – 52 jam	3 – 5 hari

Mikroba	Media yang sesuai	Suhu Inkubasi	Waktu Inkubasi Inokula	Waktu Inkubasi Rekoverti Mikroba
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC No. 16404)	<i>Sabouraud Dextrose</i> Agar; <i>Sabouraud Dextrose</i> Broth	22,5°±2,5°	6 – 10 hari	3 – 7 hari

Kondisi biakan untuk inokula dalam media yang sesuai yaitu *Soybean-Casein Digest* atau *Sabouraud Dextrose Agar* seperti tertera pada Tabel 2 pada lampiran *Uji Batas Mikroba <51>*.

Untuk memanen biakan bakteri dan *C.albicans* gunakan *salin LP* steril, cuci biakan yang tumbuh di permukaan, kumpulkan dalam wadah yang sesuai dan tambahkan *salin LP* steril secukupnya hingga diperoleh suspensi dengan jumlah mikroba lebih kurang  $1 \times 10^8$  koloni per ml. Untuk memanen biakan *A.niger* gunakan *salin LP* steril yang mengandung 0,05% *polisorbat 80 P* dan tambahkan *salin LP* steril secukupnya hingga diperoleh suspensi dengan jumlah mikroba lebih kurang  $1 \times 10^8$  koloni per ml.

Cara lain, mikroba stok-biakan dapat ditumbuhkan dalam media cair yang sesuai (misalnya *Soybean Casein Digest Broth* atau *Sabouraud Dextrose Broth*) dan sel mikroba dipanen dengan cara sentrifus kemudian dicuci dan disuspensikan kembali dalam *salin LP* steril secukupnya hingga diperoleh suspensi dengan jumlah mikroba lebih kurang  $1 \times 10^8$  koloni per ml. [Catatan Perkiraan kadar inokula dapat dilakukan dengan pengukuran turbidimetri untuk mikrobaantang. Bila tidak segera digunakan dalam waktu 2 jam, suspensi harus disimpan dalam lemari pendingin.]

Tetapkan jumlah koloni per ml dari setiap suspensi, menggunakan kondisi media dan waktu inkubasi untuk rekoverti yang tertera pada Tabel 2 untuk memastikan perkiraan jumlah awal. Nilai perkiraan ini digunakan untuk mengkalibrasi ukuran inokula yang digunakan dalam pengujian. Suspensi bakteri dan khamir harus digunakan dalam waktu 24 jam dari panen, tetapi untuk kapang dapat disimpan dalam lemari pendingin dalam waktu sampai 7 hari.

### PROSEDUR

Pengujian dapat dilakukan dalam tiap lima wadah asli bila volume sediaan tiap wadahnya mencukupi dan wadah sediaan dapat ditusuk secara aseptik (dengan jarum dan alat suntik melalui tutup karet elastomerik), atau dalam lima wadah bakteriologi bertutup steril, berukuran mencukupi untuk volume sediaan yang dipindahkan. Inokulasi tiap wadah dengan satu inokula baku yang telah disiapkan dan diaduk. Volume suspensi inokula yang digunakan antara 0,5% dan 1,0% dari volume sediaan. Kadar mikroba uji yang ditambahkan pada sediaan (Kategori 1, 2, dan 3) seperti halnya kadar akhir sediaan uji setelah diinokulasi antara  $1 \times 10^5$  dan  $1 \times 10^6$  koloni/ml. Untuk sediaan Kategori 4 (antasida)

kadar akhir sediaan uji setelah inokulasi antara  $1 \times 10^3$  dan  $1 \times 10^4$  koloni/ml.

Kadar awal mikroba "viabel" dalam setiap sediaan uji diperkirakan berdasarkan kadar mikroba dalam inokula standar ditetapkan dengan metode angka lempeng total.

Inkubasi wadah yang sudah diinokulasi pada  $22,5^\circ \pm 2,5^\circ$ . Ambil sampel dari setiap wadah pada interval yang sesuai seperti tertera pada Tabel 3. Catat setiap perubahan penampilan yang diamati pada interval tersebut. Tetapkan dengan prosedur angka lempeng total jumlah koloni yang ada dari setiap sediaan uji untuk interval yang digunakan seperti tertera pada lampiran *Uji Batas Mikroba <51>*. Pada uji angka lempeng total atau pengenceran yang sesuai tambahkan inaktivator (penetral) antimikroba spesifik. Kondisi ini digunakan untuk validasi sampel berdasarkan kondisi media dan waktu inkubasi rekoverti mikroba seperti tertera pada Tabel 2. Dengan menggunakan jumlah koloni/ml terhitung pada awal pengujian, hitung perubahan dalam nilai log jumlah koloni/ml untuk setiap mikroba yang digunakan pada setiap interval uji dan nyatakan sebagai log reduksi.

### KRITERIA EFEKTIVITAS ANTIMIKROBA

Persyaratan untuk efektivitas antimikroba dipenuhi jika kriteria spesifik pada Tabel 3 dipenuhi: Tidak terjadi peningkatan lebih tinggi dari log 0,5 unit terhadap nilai log mikroba awal.

Tabel 3 Kriteria untuk Mikroba uji

<i>Untuk Sediaan Kategori 1</i>	
Bakteri	Koloni tidak kurang dari 1,0 log reduksi dari jumlah hitungan awal pada hari ke-7, tidak kurang dari 3,0 log reduksi dari hitungan awal pada hari ke-14, dan tidak meningkat sampai dengan hari ke-28.
Kapang dan khamir	Koloni tidak meningkat dari jumlah hitungan awal sampai hari ke-7, 14 dan 28.
<i>Untuk Sediaan Kategori 2</i>	
Bakteri	Koloni tidak kurang dari 2,0 log reduksi dari jumlah awal pada hari ke-14, dan tidak meningkat dari hari ke-14 sampai hari ke-28.
Kapang dan khamir	Koloni tidak meningkat dari jumlah hitungan awal sampai hari ke-14 dan 28.



<i>Untuk Sediaan Kategori 3</i>	
Bakteri	Koloni tidak kurang dari 1,0 log reduksi dari jumlah hitungan awal pada hari ke-14, dan tidak meningkat sampai dengan hari ke-28.
Kapang dan khamir	Koloni tidak meningkat dari jumlah hitungan awal sampai hari ke-14 dan 28.
<i>Untuk Sediaan Kategori 4</i>	
Bakteri, kapang dan khamir	Koloni tidak meningkat dari jumlah hitungan awal sampai hari ke-14 dan 28.

## UJI KINERJA RESISTENSI INDIKATOR BIOLOGI <65>

### PENGHITUNGAN ANGKA SPORA

Untuk indikator biologi dengan pembawa kertas, lepaskan tiga buah indikator biologi yang relevan dari masing-masing wadahnya. Dispersikan kertas pembawa dengan memasukkan ke dalam 250 ml "blender" steril berisi 100 ml *Air Murni* dingin, campurkan hingga terbentuk suspensi homogen. Umumnya pencampuran dilakukan selama 15 menit atau lebih untuk memperoleh perolehan kembali yang optimal. Pindahkan sejumlah 10 ml alikuot suspensi ke dalam 16 x 125 mm tabung bertutup ulir steril. Untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Uap Basah* dengan *Pembawa Kertas*, panaskan tabung berisi suspensi dalam tangas air pada 95° - 100° selama 15 menit (syok panas) dimulai setelah suhu mencapai 95°. Untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Panas Kering* dengan *Pembawa Kertas* dan *Indikator Biologi Sterilisasi Etilen Oksida*, dengan *Pembawa Kertas*, panaskan tabung berisi suspensi dalam tangas air pada 80° - 85° selama 10 menit dimulai setelah suhu mencapai 80°. Dinginkan secara cepat dalam tangas air-es pada 0° - 4°. Pindahkan 1 ml alikuot masing-masing ke dalam dua tabung yang sesuai, dan lakukan seri pengenceran secukupnya dalam *Air Murni* steril, pengenceran dipilih dengan hasil penghitungan 30 - 300 koloni, tetapi tidak kurang dari 6, pada tiap pasangan lempeng dengan perlakuan sebagai berikut ini. Bila indikator biologi mempunyai kadar spora rendah, mungkin seri pengenceran perlu dimodifikasi dan menggunakan lempeng lebih banyak untuk tiap pengenceran. Siapkan seri terpisah lempeng untuk tiap alikuot. Masukkan 1,0 ml suspensi dari tingkat pengenceran yang dipilih ke dalam masing-masing dua cawan Petri 15 - 100 mm. Dalam waktu 20 menit tambahkan pada tiap cawan 20 ml media *Soybean-Casein Digest Agar* cair dan telah didinginkan 45° - 50°. Campur dengan memutar cawan hingga suspensi homogen, dan kemudian dibiarkan memadat. Inkubasikan lempeng dengan posisi dibalik pada 55° - 60°, untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Uap Basah* dengan *Pembawa Kertas*, dan pada 30° - 35° *Indikator Biologi Sterilisasi Etilen Oksida*, dengan *Pembawa Kertas* dan *Indikator Biologi Sterilisasi Panas Kering* dengan *Pembawa Kertas* atau pada suhu rekoveri

optimal ditentukan dari pabrik. Amati lempeng setelah 24 dan 48 jam, catat jumlah koloni tiap lempeng; dan gunakan jumlah koloni yang diamati setelah 48 jam untuk menghitung hasil. Hitung jumlah rata-rata spora tiap indikator dari hasil penghitungan, menggunakan faktor pengenceran yang sesuai. Pengujian dinyatakan absah bila log jumlah spora per (kertas) pembawa pada 48 jam sama atau lebih besar dari log jumlah setelah 24 jam dalam tiap wadah. Untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Uap Basah, Self-Contained* lepaskan secara aseptik tiga buah pembawa dari masing-masing wadahnya, dan perlakukan langsung seperti pada *Indikator Biologi Sterilisasi Uap Basah* dengan *Pembawa Kertas*.

Untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Pemanasan Basah, Pemanasan Kering, dan Gas*, dengan *Pembawa Non-Kertas*, lepaskan secara aseptik tiga buah pembawa dari masing-masing kemasan asli atau wadahnya. Masukkan tiap pembawa ke dalam wadah steril yang sesuai berisi 100 ml *Air Murni* dingin, dan sonikasi atau kocok dengan *pengocok-resiprok* secukupnya. Lima belas menit atau lebih mungkin diperlukan untuk perolehan kembali yang optimal. Sebaiknya telah dilakukan studi pendahuluan untuk memastikan bahwa metode perolehan kembali menghasilkan sedikitnya 50%-300% perolehan kembali angka spora hidup. Pindahkan sejumlah 10 ml alikuot suspensi ke dalam 16 x 125 mm tabung bertutup ulir steril. Panaskan tabung berisi suspensi *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* pada 80° - 85° selama 10 menit. Panaskan tabung berisi suspensi *Geobacillus stearothermophilus* pada 95° - 100° selama 15 menit. Penghitungan waktu dimulai pada saat tiap rentang suhu pemanasan mencapai yang terendah. Dinginkan segera dalam tangas air es pada 0° - 4°. Pindahkan masing-masing 1 ml alikuot ke dalam dua tabung yang sesuai, dan lakukan seri pengenceran secukupnya dalam *Air Murni* steril, pengenceran dipilih dengan hasil penghitungan 30 - 300 koloni, tetapi tidak kurang dari 6, pada tiap pasangan lempeng dengan perlakuan sebagai berikut ini.

Bila indikator biologi mempunyai kadar spora rendah, mungkin seri pengenceran perlu dimodifikasi dan menggunakan lempeng lebih banyak untuk tiap pengenceran. Siapkan seri terpisah lempeng untuk tiap alikuot. Masukkan 1 ml suspensi dari tingkat pengenceran yang dipilih ke dalam masing-masing dua cawan Petri 15 - 100 mm. Dalam waktu 20 menit tambahkan pada tiap cawan 20 ml media *Soybean-Casein Digest Agar* cair dan telah didinginkan 45° - 50°. Campur dengan memutar cawan hingga suspensi homogen.

Untuk *G.stearothermophilus*, *B.atrophaeus*, *B.subtilis*, dan *B.coagulans*, gunakan media *Soybean-Casein Digest Agar* dan inkubasikan lempeng secara aerob dengan posisi dibalik pada suhu berturut-turut untuk tiap mikroba sebagai berikut: 55° - 60°, 30° - 35°, 48° - 52°, atau pada suhu optimum khusus sesuai dengan indikator biologi pabrik. Amati lempeng setelah 24 dan 48 jam. Catat jumlah koloni tiap lempeng. Hitung rata-rata jumlah spora tiap indikator dari hasil penghitungan,

menggunakan faktor pengenceran yang sesuai. Pengujian dinyatakan absah bila log jumlah spora per pembawa pada 48 jam sama atau lebih besar dari log jumlah setelah 24 jam dalam tiap wadah.

Untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Pemanasan Basah, Pemanasan Kering, dan Gas, Suspensi Spora Cair*, menggunakan *G.stearothermophilus*, *B.atrophaeus*, *B.subtilis*, dan *B.coagulans* sebagai indikator biologi, disiapkan seri pengenceran secukupnya, suspensi asli spora dengan *Air Murni* dingin steril dalam tabung bertutup ulir 16 x 125 mm menggunakan prosedur khusus penghitungan angka spora dengan *Indikator Biologi Sterilisasi Pemanasan Basah, Pemanasan Kering, dan Gas*, dengan *Pembawa Non-Kertas*.

### PENETAPAN NILAI-D

Lakukan seluruh pengujian seperti dijelaskan dalam bagian ini di bawah kondisi aseptik, menggunakan peralatan steril untuk mikroba non-termofilik. Penetapan Nilai-D untuk *G.stearothermophilus* dan *B.coagulans* dapat dilakukan di lingkungan tidak diklasifikasi tetapi terkendali.

#### Peralatan

Peralatan uji untuk menetapkan resistensi mikrobiologi yang dijelaskan secara rinci dalam ISO 18472, *Sterilisasi Produk Kesehatan-Indikator Biologi dan Kimia-Peralatan Uji*. Rincian *Resistometer Evaluasi Indikator Biologi* (REIB) secara individu bervariasi dengan rancangan spesifik dan proses sterilisasi utama bersama dengan yang digunakan. Tetapkan bahwa kinerja bejana REIB sesuai dengan persyaratan standar ISO untuk paparan indikator biologi, dengan perbedaan rancangan yang dapat diterima.

#### Prosedur

Lakukan pengujian Nilai-D pada setiap pengaturan kondisi sterilisasi, paket indikator biologi diberi tanda (label) untuk digunakan. Ambil kelompok spesimen indikator biologi sejumlah yang cukup dalam wadah asli masing-masing, setiap kelompok terdiri dari tidak kurang 5 spesimen. Jumlah kelompok menyediakan rentang pengamatan dari tidak kurang dari satu label nilai-D di bawah tanda waktu bertahan hidup ("*survival time*") sampai tidak kurang dari satu label nilai-D di atas tanda waktu mematikan ("*kill time*"). Letakkan setiap kelompok pada tempat spesimen ("*specimen holder*") terpisah yang sesuai yang memungkinkan setiap spesimen terpapar kondisi sterilisasi yang telah ditentukan pada lokasi khusus dalam bejana sterilisasi REIB. Periksa alat REIB untuk parameter pengoperasian menggunakan "*specimen holder*" tanpa spesimen. Pilih seri tambahan waktu sterilisasi dari waktu terpendek untuk spesimen yang diuji. Perbedaan pada seri waktu sterilisasi, sedapat mungkin konstan dan perbedaan antara waktu yang berdekatan tidak lebih besar dari 75% nilai-D label.

Prosedur uji penggunaan bejana REIB untuk evaluasi resistensi mikroba ditetapkan dalam standar ISO seri 11138. Indikator biologi sebaiknya mengikuti standar yang sesuai. Metode uji dan penggunaan pembawa dengan REIB mungkin dapat disesuaikan untuk indikator biologi khusus. Metode dan peralatan yang digunakan untuk pembawa kertas dapat berbeda dengan pembawa lain dan secara substansial berbeda dari penggunaan suspensi indikator biologi.

Kondisi pemaparan nilai-D untuk pembawa bahan alternatif sama dengan kondisi yang digunakan untuk menetapkan nilai-D pembawa kertas. Jika label pabrik membolehkan penggunaan pembawa dengan berbagai metode sterilisasi, maka data nilai-D, "*survival time*", "*kill time*" disediakan oleh pabrik untuk setiap metode sterilisasi. Hal ini memungkinkan indikator biologi yang diinokulasi pada pembawa selain kertas disterilisasi/dekontaminasi dengan metoda gas atau uap seperti fase uap hidrogen peroksida dan klorin dioksida.

Standar kondisi fisik evaluasi indikator biologi untuk penggunaan dengan fase uap hidrogen peroksida dan klorin dioksida belum ditetapkan. Dalam hal klorin dioksida, kadar gas, kelembaban relatif, dan suhu merupakan pengendali kondisi proses yang penting, yang dapat diukur dengan akurat. Pabrik penghasil indikator biologi menggunakan klorin dioksida harus menyatakan kondisi yang harus dilakukan di bawah penetapan nilai-D, sehingga pengguna dapat paling tidak melihat resistensi banyak indikator biologi sebagai pembanding untuk mengantisipasi kondisi yang digunakan. Situasi dengan fase uap hidrogen peroksida lebih kompleks, berbagai peralatan pabrik menawarkan dekontaminasi atau kondisi sterilisasi yang berbeda. Jadi tidak ada proses standar untuk melakukan dekontaminasi dengan fase uap hidrogen peroksida atau sterilisasi permukaan. Hal ini diikuti tidak adanya metode evaluasi standar industri indikator biologi, walaupun mungkin tidak berhubungan langsung antara kadar uap dan kecepatan ataupun keefektifan inaktivasi indikator biologi. Sebagai tambahan, sulit untuk mengases kelembaban relatif secara akurat, yang sering ditetapkan sebagai parameter proses kritis dengan adanya uap hidrogen peroksida. Untuk alasan ini lebih masuk akal untuk menetapkan resistensi indikator biologi menjadi relatif atau ukuran relatif pabrik daripada nilai-D sebenarnya. Selanjutnya tergantung peralatan dan proses yang dikerjakan, dan ini menjadi tidak mungkin bagi pengguna mengulangi uji resistensi biologi yang telah dilakukan oleh pabrik.

Untuk *Indikator Biologi Sterilisasi Uap Basah, Pemanasan Kering, dan Gas, Suspensi Spora Cair*, dilakukan penetapan nilai-D untuk tiap mikroba untuk menyediakan suspensi hasil panen spora cair. Uji dilakukan dengan seri pengenceran berdasarkan status titer spora dari suspensi dengan *Air Murni* dalam tabung steril.

Bila suspensi dimasukkan pada atau dalam substrat misal tutup elastomerik atau produk formulasi, resistensinya mungkin berbeda dari yang ditetapkan dalam *Air Murni*. Perbedaan itu mungkin bermakna

untuk penggunaan indikator biologi dan pengukuran yang sesuai sebelumnya untuk digunakan dalam aktivitas validasi sterilisasi.

### Perolehan Kembali

Setelah melengkapi prosedur sterilisasi Indikator Biologi untuk Sterilisasi Panas Kering dengan Pembawa Kertas dan Indikator Biologi untuk Sterilisasi Etilen Oksida, dengan Pembawa Kertas; atau Indikator Biologi untuk Sterilisasi Uap dengan Pembawa Kertas yang dapat diterapkan dan dalam catatan waktu tidak lebih dari 4 jam, buka secara aseptik dan tambahkan tiap strip ke dalam media sesuai (lihat Media di bawah Uji Sterilitas <71>) untuk merendam indikator biologi dalam tabung yang sesuai. Untuk tiap Indikator Biologi untuk Sterilisasi Uap Basah, Self-Contained spesimen, strip kertas direndam dalam media self-contained menurut petunjuk pabrik, dalam catatan waktu tidak lebih dari 4 jam. Inkubasi tiap tabung pada suhu rekoveri optimal yang ditetapkan pabrik. Amati tiap tabung berisi media yang diinokulasi pada interval yang cukup untuk total 7 hari setelah inokulasi. (Bila terjadi pertumbuhan pada saat pengamatan maka inkubasi tidak perlu dilanjutkan). Catat jumlah spesimen yang tidak tumbuh pada tiap waktu.

Untuk Indikator Biologi untuk Sterilisasi Uap Basah, Pemanasan Kering, dan Sterilisasi Gas, Pembawa Bukan kertas, rekoveri spora dari pembawa indikator biologi akan mengikuti prosedur yang dijelaskan dalam prosedur Angka Total Spora Hidup. Metode penetapan nilai-D indikator biologi dengan pembawa kertas dapat digunakan untuk menghitung nilai-D untuk pembawa bukan kertas. Kondisi inkubasi mikroba yang akan digunakan untuk indikator biologi dengan pembawa bukan kertas dijelaskan dalam bab Angka Total Spora Hidup.

Untuk Indikator Biologi untuk Sterilisasi Uap Basah, Pemanasan Kering, dan Gas, Suspensi Spora Cair, metode rekoveri setelah kondisi paparan sterilisasi adalah metode yang dijelaskan dalam bab Angka Total Spora Hidup suspensi spora cair, dan jika penetapan nilai-D pemanasan kering dibuat dari suspensi *B. atrophaeus*, prosedur rekoveri sama seperti dijelaskan dalam Indikator Biologi untuk Sterilisasi Uap Basah dengan Pembawa Kertas.

Ketika digunakan *Clostridium sporogenes* sebagai indikator biologi, metode persiapan, inokulasi, metode rekoveri dan media harus diadaptasikan untuk dapat mengakomodasi penggunaan pembentukan spora anaerob.

### Penghitungan

Penetapan nilai-D indikator biologi dapat dilakukan menggunakan Metode Spearman-Kärber Terbatas, Kurva Survival atau prosedur Sumbu-Murphy-Cochran. Lebih baik menggunakan metode sama dengan yang ditetapkan oleh pabrik indikator biologi untuk menetapkan nilai-D. Penggunaan metode berbeda akan

memberikan hasil berbeda lebih kepada sebagai alat dari pada variasi kinerja indikator biologi.

### "Survival time" dan "Kill time"

Gunakan dua kelompok, masing-masing terdiri dari 10 indikator biologi yang relevan, dalam wadah asli. Tempatkan spesimen tiap kelompok dalam rak spesimen yang memungkinkan tiap spesimen terpapar kondisi sterilisasi pada lokasi khusus dalam bejana REIB.

Lakukan pemaparan spesimen untuk "survival time" yang disyaratkan, masukkan ke dalam bejana, dan pisahkan wadah yang berisi 10 spesimen. Ulangi prosedur di atas segera, atau panaskan sebelumnya bila selang waktu yang cukup telah dilampaui, sehingga wadah yang berisi 10 spesimen kedua diperlakukan sama seperti yang pertama kecuali untuk persyaratan "kill time".

"Survival time" dan "kill time" untuk seluruh monografi indikator biologi dijelaskan dalam masing-masing monografi.

### UJI STERILITAS <71>

Prosedur farmakope ini didesain bukan untuk menjamin bahwa satu betas produk adalah steril atau telah disterilkan. Hal ini terutama harus disertai dengan validasi proses sterilisasi atau prosedur proses aseptik.

Pengujian digunakan untuk bahan, sediaan, alat sesuai dengan farmakope yang dipersyaratkan harus steril. Hasil yang diterima menunjukkan bahwa tidak ada kontaminasi mikroba ditemukan dalam sampel di bawah kondisi pengujian.

### TINDAKAN PENCEGAHAN TERHADAP KONTAMINASI MIKROBA

Pengujian sterilitas dilaksanakan pada kondisi aseptik. Untuk mencapai kondisi tersebut, lingkungan pengujian harus dibuat sama seperti ketika uji sterilitas dilakukan. Tindakan pencegahan untuk mencegah kontaminasi tidak boleh mempengaruhi mikroba yang ada dalam pengujian. Kondisi pengerjaan, ketika uji dilakukan dimonitor secara berkala dengan melakukan sampling yang sesuai pada area kerja dan kontrol yang sesuai.

### MEDIA DAN SUHU INKUBASI

Media untuk pengujian dapat dibuat seperti tertera di bawah ini atau setara dengan media komersil yang memenuhi syarat Uji Fertilitas Aerob, Anaerob dan Kapang.

Media berikut adalah media yang sesuai untuk uji sterilitas. Media Cair Tioglikolat terutama digunakan untuk pertumbuhan bakteri anaerob, termasuk juga untuk mendeteksi bakteri aerob. "Soybean-Casein Digest Medium" sesuai untuk pertumbuhan kapang dan bakteri aerob.

**Media Cair Tioglikolat**

<i>L-Sistin P</i>	0,5 g
<i>Natrium klorida P</i>	2,5 g
<i>Dekstrosa monohidrat/anhidrat P</i>	5,5 / 5,0g
<i>Agar P</i>	0,75 g
<i>Yeast extract (larut dalam air)</i>	5,0 g
<i>Pancreatic digest of casein</i>	15,0 g
<i>Natrium tioglikolat P</i> atau	0,5 g
<i>Asam tioglikolat P</i>	0,3 ml
Larutan <i>natrium resazurin P</i> (1 dalam 1000) dibuat segar	1,0 ml
Air murni	1000 ml

pH setelah sterilisasi 7,1±0,2

Campur dan panaskan hingga larut *L-sistin P*, *natrium klorida P*, *dekstrosa*, *yeast extract* dan *pancreatic digest of casein* dalam air murni. Larutkan *natrium tioglikolat P* atau *asam tioglikolat P* ke dalam larutan dan atur pH hingga setelah sterilisasi 7,1±0,2 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*. Jika diperlukan penyaringan, panaskan kembali larutan tanpa mendidih, dan saring selagi panas melalui kertas saring yang telah dibasahkan. Tambahkan larutan *natrium resazurin P*, campur dan tempatkan media dalam tabung yang sesuai, yang memberikan perbandingan permukaan dengan kedalaman media sedemikian rupa sehingga tidak lebih dari setengah bagian atas media yang mengalami perubahan warna sebagai indikasi masuknya oksigen pada akhir masa inkubasi. Sterilisasi menggunakan proses yang telah divalidasi. Jika media disimpan, maka simpan pada suhu antara 2° dan 25° dalam wadah steril tertutup rapat. Jika lebih dari sepertiga bagian atas media terjadi warna merah muda, media dapat diperbaiki kembali dengan pemanasan diatas tangas air atau dalam uap air yang mengalir bebas hingga warna merah muda hilang, dan dinginkan secepatnya, cegah masuknya udara tidak steril ke dalam wadah. Media tidak boleh digunakan lebih lama dari waktu penyimpanan yang telah tervalidasi.

Media Cair Tioglikolat diinkubasi pada suhu 30° - 35°. Untuk sediaan yang mengandung pengawet raksa yang tidak dapat diuji menggunakan metode Penyaringan membran, Media Cair Tioglikolat diinkubasi pada suhu 20° - 25° sebagai pengganti "*Soybean Casein Digest Medium*" yang telah tervalidasi yang tertera pada uji *Fertilitas Anaerob, Aerob dan Kapang*. Media Tioglikolat Alternatif dapat digunakan jika sudah disetujui. Buat campuran menggunakan komposisi sama seperti Media Cair Tioglikolat tetapi tidak menggunakan *agar P* dan larutan *natrium resazurin P*. Sterilkan sama seperti di atas. pH setelah sterilisasi 7,1±0,2. Panaskan dalam tangas air sebelum digunakan dan inkubasi pada suhu 30° - 35° dalam kondisi anaerob.

**Soybean-Casein Digest Medium**

<i>Pancreatic digest of casein</i>	17,0 g
<i>Papaic digest of soybean meal</i>	3,0 g
<i>Natrium klorida P</i>	5,0 g
<i>Kalium fosfat dibasa P</i>	2,5 g
<i>Dekstrosa monohidrat/anhidrat P</i>	2,5/2,3 g
Air murni	1000 ml

pH setelah sterilisasi 7,3 ± 0,2

Larutkan semua bahan padat dalam air murni, hangatkan hingga larut. Dinginkan larutan hingga suhu ruang, dan jika perlu atur pH larutan hingga setelah sterilisasi 7,3±0,2 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*. Jika perlu saring hingga jernih, bagikan dalam wadah-wadah yang sesuai dan sterilisasi menggunakan proses yang telah divalidasi. Simpan pada suhu antara 2° dan 25° dalam wadah steril dan tertutup baik, kecuali jika segera digunakan. Media tidak boleh digunakan lebih lama dari waktu penyimpanan yang telah tervalidasi.

*Soybean Casein Digest Medium* diinkubasi pada 22,5±2,5°.

**Media untuk Golongan Penisilin dan Sefalosporin**

Jika media uji sterilitas akan digunakan pada metode *Inokulasi langsung ke dalam Media Uji* seperti tertera pada *Uji Sterilitas Sediaan*, modifikasi pembuatan media, baik Media Cair Tioglikolat maupun "*Soybean Casein Digest Medium*" sebagai berikut: Masukkan secara aseptik pada setiap wadah media sejumlah β-laktamase untuk menginaktifkan sejumlah antibiotik dalam zat uji. Tetapkan jumlah β-laktamase yang diperlukan untuk menginaktifkan antibiotik menggunakan sediaan β-laktamase yang sebelumnya sudah diuji inaktivasi daya hambat dari penisilin atau sefalosporin. [Catatan Media yang telah mengandung β-laktamase dapat juga digunakan untuk pengujian dengan metode penyaringan membran.]

Sebagai alternatif (Lakukan uji di daerah yang benar-benar terpisah dari tempat uji sterilitas), tetapkan jumlah β-laktamase yang diperlukan di dalam media seperti tertera pada *Uji kesesuaian metode* menggunakan *Staphylococcus aureus* kurang dari 100 koloni (lihat Tabel 1) sebagai bakteriantang. Amati pertumbuhan mikroba yang khas sebagai konfirmasi bahwa kadar β-laktamase sudah tepat.

**Tabel 1 Galur Mikroba Uji yang sesuai untuk penggunaan Uji Fertilitas dan Uji kesesuaian metode**

Bakteri Aerob	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538; CIP 4.83; NCTC 10788; NCIMB 9518; NBRC 13276
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633; CIP 52.62; NCIMB 8054; NBRC 3134
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>1</sup>	ATCC 9027; NCIMB 8626; IP 82.118; NBRC 13275

<b>Bakteri Anaerob</b>	
<i>Clostridium sporogenes</i> <sup>2</sup>	ATCC 19404; CIP 79.3; NCTC 532 atau ATCC 11437; NBRC 14293
<b>Kapang</b>	
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ( <i>Aspergillus niger</i> )	ATCC 16404; IP 1431.83 MI 149007; NBRC 9455

1. Alternatif untuk *Pseudomonas aeruginosa* adalah *Kocuria rhizophila* (*Micrococcus luteus*) ATCC 9341
2. Alternatif untuk *Clostridium sporogenes*, jika diinginkan mikroba yang bukan pembentuk spora adalah *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482.

Media yang digunakan sesuai dengan uji di bawah ini. Pengujian dilakukan sebelum atau bersamaan dengan pengujian sediaan.

#### Sterilitas

Inkubasi sebagian dari media pada suhu yang sesuai selama 14 hari. Tidak boleh ada pertumbuhan mikroba.

#### Uji Fertilitas untuk Aerob, Anaerob dan Kapang

Lakukan uji fertilitas terhadap tiap lot media siap pakai dan tiap betas dari media yang dibuat menggunakan media kering atau dari bahannya. Galur mikroba yang sesuai dapat dilihat pada *Tabel 1*.

Inokulasikan sejumlah Media Cair Tioglikolat dengan sejumlah mikroba berikut (tidak lebih dari 100 koloni), menggunakan sejumlah media terpisah untuk setiap spesies mikroba: *Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*. Inokulasikan sejumlah Media Tioglikolat Alternatif dengan sejumlah *Clostridium sporogenes* (tidak lebih dari 100 koloni). Inokulasikan sejumlah "Soybean Casein Digest Medium" dengan sejumlah mikroba berikut (tidak lebih dari 100 koloni) menggunakan sejumlah media terpisah untuk setiap spesies mikroba: *Aspergillus brasiliensis*, *Bacillus subtilis* dan *Candida albicans*. Inkubasi tidak lebih dari 3 hari untuk bakteri dan tidak lebih dari 5 hari untuk kapang. Teknik pemeliharaan lot benih kultur (sistem lot benih) untuk mikroba viabel yang diinokulasikan tidak lebih dari 5 pasase yang diturunkan dari lot benih master asli.

Media dapat digunakan jika terlihat pertumbuhan mikroba dengan jelas.

#### CAIRAN PENGECER DAN PEMBILAS UNTUK PENYARINGAN MEMBRAN

##### Cairan A

*Cara pembuatan* Larutkan 1 g *peptic digest of animal tissue* dalam air hingga 1 liter, jika perlu saring atau sentrifus hingga jernih, atur pH hingga 7,1±0,2. Bagikan ke dalam wadah-wadah, dan sterilisasi menggunakan proses yang telah divalidasi.

*Cara Pembuatan untuk Penisilin atau Sefalosporin* Jika perlu tambahkan secara aseptik pada larutan diatas, sejumlah β-laktamase steril yang cukup untuk

menginaktifkan aktifitas residu antibiotik pada membran setelah larutan uji disaring (lihat *Media untuk Golongan Penisilin dan Sefalosporin*).

##### Cairan D

Untuk setiap liter *Cairan A* tambahkan 1 ml *polisorbat 80 P*, atur pH hingga 7,1±0,2, bagikan ke dalam wadah-wadah, dan sterilisasi menggunakan proses yang telah divalidasi. Gunakan cairan ini untuk bahan uji yang mengandung lesitin atau minyak, atau untuk alat kesehatan yang beretiket lumen steril.

##### Cairan K

Larutkan 5,0 g *peptic digest of animal tissue*; 3,0 g *beef extract* dan 10,0 g *polisorbat 80 P*, dalam air hingga 1 liter. Atur pH hingga setelah sterilisasi pH 6,9±0,2. Bagikan ke dalam wadah-wadah, dan sterilisasi menggunakan proses yang telah divalidasi.

#### UJI KESESUAIAN METODE

Lakukan uji seperti tertera pada *Uji Sterilitas Produk* menggunakan metode yang sama, kecuali untuk modifikasi berikut ini:

##### Penyaringan Membran

Setelah isi wadah atau isi beberapa wadah yang diuji disaring melalui membran, tambahkan inokulum dari sejumlah kecil mikroba "viable" (tidak lebih dari 100 koloni) ke dalam pembilas steril terakhir yang digunakan untuk membilas penyaring.

##### Inokulasi langsung

Setelah isi wadah atau isi beberapa wadah yang diuji (gunakan helaian untuk benang bedah dan alat-alat bedah yang digunakan dokter hewan) dimasukkan ke dalam media, tambahkan sejumlah kecil inokulum mikroba "viable" (tidak lebih dari 100 koloni) ke dalam media. Pada kedua cara diatas, gunakan mikroba yang sama seperti tertera pada *Uji Fertilitas untuk Aerob, Anaerob dan Kapang*. Lakukan uji fertilitas sebagai kontrol positif. Inkubasi semua wadah yang berisi media selama tidak lebih dari 5 hari.

Jika setelah masa inkubasi terlihat pertumbuhan mikroba dengan jelas secara visual dibandingkan dengan tabung yang tidak berisi sampel, maka sampel tidak mempunyai sifat antimikroba pada kondisi uji atau aktifitasnya telah dihilangkan dengan sempurna. Uji sterilitas kemudian dapat dilakukan tanpa modifikasi lebih lanjut.

Jika tidak terlihat pertumbuhan mikroba dengan jelas pada tabung yang berisi sampel secara visual, dibandingkan dengan tabung yang tidak berisi sampel, maka sampel mempunyai aktifitas antimikroba yang tidak dapat dihilangkan pada kondisi pengujian. Modifikasi kondisi ini untuk menghilangkan daya aktifitas antimikroba dan ulangi *Uji Kesesuaian Metode*.

*Uji Kesesuaian Metode* dilakukan untuk a) uji sterilitas pada sediaan baru; b) ada perubahan yang dilakukan pada kondisi pengujian. *Uji Kesesuaian Metode* dapat dilakukan secara simultan dengan *Uji Sterilitas Sediaan*.

**UJI STERILITAS SEDIAAN**

**Jumlah Bahan yang Diuji**

Kecuali dinyatakan lain pada bab ini atau masing-masing monografi, gunakan jumlah wadah seperti tertera pada *Tabel 3*. Jika isi tiap wadah mencukupi (lihat *Tabel 2*) isi wadah dapat dibagi sama banyak dan ditambahkan pada media yang sesuai. [*Catatan Lakukan uji sterilitas*

*menggunakan dua atau lebih media yang sesuai*]. Jika isi wadah tidak cukup untuk masing-masing media, gunakan jumlah dua kali dari yang tertera pada *Tabel 3*.

Pengujian terhadap contoh uji dapat dilakukan menggunakan teknik *Penyaringan Membran* atau *Inokulasi Langsung ke dalam Media Uji*. Gunakan juga kontrol negatif yang sesuai. Teknik *Penyaringan Membran* digunakan apabila sifat contoh sesuai, yaitu untuk sediaan yang mengandung air dan dapat disaring, sediaan yang mengandung alkohol atau minyak, dan sediaan yang dapat dicampur dengan atau yang larut dalam pelarut air atau minyak, dengan ketentuan bahwa pelarut tidak mempunyai efek antimikroba pada kondisi pengujian.

**Tabel 2 Jumlah Minimum yang Digunakan untuk Tiap Media**

Isi per wadah	Jumlah minimum yang digunakan (Kecuali dinyatakan lain)
<b>Larutan</b>	
Kurang dari 1 ml	Seluruh isi tiap wadah
1 – 40 ml	setengah isi tiap wadah, tetapi tidak kurang dari 1 ml
Lebih dari 40 ml, tidak lebih dari 100 ml	20 ml
Lebih dari 100 ml	10% isi wadah, tetapi tidak kurang dari 20 ml
Larutan antibiotik	1 ml
Sediaan larut dalam air lainnya atau dalam isopropil miristat	Seluruh isi tiap wadah, sebanding dengan tidak kurang dari 200 mg
Sediaan yang tidak larut, krim, dan salep, yang tersuspensi atau teremulsi	Gunakan isi tiap wadah yang sebanding dengan tidak kurang dari 200 mg
<b>Zat Padat</b>	
Kurang dari 50 mg	Seluruh isi tiap wadah
50 mg atau lebih, tetapi kurang dari 300 mg	Setengah isi tiap wadah, tetapi tidak kurang dari 50 mg
300 mg – 5 g	150 mg
Lebih besar dari 5 g	500 mg
Benang bedah dan peralatan bedah lainnya untuk penggunaan dokter hewan	3 potongan untuk helai (panjang tiap potong 30 cm)
Pembalut/ kapas/perban (dalam kemasan)	100 mg per kemasan
Benang bedah dan bahan sejenis yang dikemas untuk penggunaan sekali pakai	Seluruh alat
Alat Kesehatan lainnya	Seluruh alat, potong kecil-kecil atau diuraikan

**Tabel 3 Jumlah Minimum Bahan yang diuji sesuai dengan Jumlah Bahan dalam Bets**

Jumlah wadah dalam Bets*	Jumlah Minimum wadah yang diuji tiap media (Kecuali dinyatakan lain**)
<b>Sediaan parenteral</b>	
Tidak lebih dari 100 wadah	10% atau 4 wadah, diambil yang lebih besar
Lebih dari 100, tetapi tidak lebih dari 500 wadah	10 wadah
Lebih dari 500 wadah	2% atau 20 wadah, diambil yang lebih kecil
Untuk sediaan volume besar	2% atau 10 wadah, diambil yang lebih kecil
<b>Zat Padat antibiotik</b>	
Produk ruahan dalam kemasan <5 g	20 wadah
Produk ruahan dalam kemasan ≥5 g	6 wadah
Produk ruahan dan campuran	lihat <i>Produk ruahan padat</i>

<b>Sediaan mata dan sediaan lain yang tidak disuntikkan</b>	
Tidak lebih dari 200 wadah	5% atau 2 wadah, diambil yang lebih besar
Lebih dari 200 wadah	10 wadah
Jika sediaan dalam bentuk wadah dosis tunggal, gunakan skema diatas untuk sediaan parenteral	
Benang bedah dan peralatan bedah lainnya untuk penggunaan dokter hewan	2% atau 5 kemasan, diambil yang lebih besar, sampai total maksimum 20 kemasan
Tidak lebih dari 100 bahan	10% atau 4 bahan, diambil yang lebih besar
Lebih dari 100, tetapi tidak lebih dari 500 bahan	10 bahan
Lebih dari 500 bahan	2% atau 20 bahan, diambil yang lebih kecil
<b>Produk ruahan padat</b>	
Sampai 4 wadah	Tiap wadah
Lebih dari 4 wadah, tetapi tidak lebih dari 50 wadah	20% atau 4 wadah, diambil yang lebih besar
Lebih dari 50 wadah	2% atau 10 wadah, diambil yang lebih besar

\*Jika besarnya bets tidak diketahui, gunakan jumlah maksimum

\*\*Jika isi satu wadah cukup untuk diinokulasikan ke dalam dua media, kolom ini menyatakan jumlah wadah yang diperlukan untuk kedua media.

### Penyaringan Membran

Gunakan penyaring membran dengan porositas tidak lebih dari 0,45 µm yang telah terbukti efektif menahan mikroba. Sebagai contoh, penyaring selulosa nitrat digunakan untuk larutan yang mengandung air, minyak dan larutan mengandung alkohol berkadar rendah; dan penyaring selulosa asetat digunakan untuk larutan mengandung alkohol berkadar tinggi. Penyaring khusus yang sesuai mungkin diperlukan untuk sediaan tertentu (misal: untuk antibiotik).

Teknik pengujian di bawah ini menggunakan membran berdiameter lebih kurang 50 mm. Jika digunakan penyaring dengan diameter yang berbeda, volume larutan pengencer dan pembilas harus disesuaikan. Peralatan penyaring dan membran disterilisasi dengan cara yang sesuai. Peralatan dirancang hingga larutan uji dapat dimasukkan dan disaring pada kondisi aseptik, membran dapat dipindahkan secara aseptik ke dalam media, atau dapat dilakukan inkubasi setelah media dimasukkan ke dalam alat penyaring itu sendiri.

### LARUTAN DALAM AIR

Jika perlu pindahkan sejumlah kecil pengencer steril yang sesuai seperti *Cairan A* ke dalam membran dan saring. Pengencer dapat mengandung bahan penetral dan/atau bahan inaktifator yang sesuai, misalnya pada kasus antibiotik.

Pindahkan isi wadah atau beberapa wadah yang akan diuji ke dalam satu membran atau beberapa membran, jika perlu diencerkan dengan pengencer steril yang dipilih sesuai volume yang digunakan pada *Uji Kesesuaian Metode*, tetapi jumlah yang digunakan tidak kurang dari yang tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3*. Saring segera. Jika sediaan mempunyai daya antimikroba, cuci membran tidak kurang dari tiga kali dengan cara menyaring tiap kali dengan sejumlah volume pengencer yang digunakan pada *Uji Kesesuaian Metode*. Setiap pencucian tidak lebih dari 5 kali 100 ml per membran, meskipun jika selama uji kesesuaian metode ditemukan pencucian

tersebut tidak dapat menghilangkan daya antimikroba secara sempurna.

Pindahkan seluruh membran utuh ke dalam media atau potong menjadi dua bagian yang sama secara aseptik dan pindahkan masing-masing bagian ke dalam dua media yang sesuai. Gunakan volume yang sama pada tiap media seperti pada *Uji Kesesuaian Metode*. Sebagai pilihan lain, pindahkan media ke dalam membran pada alat penyaring. Inkubasi media selama tidak kurang dari 14 hari.

### ZAT PADAT YANG DAPAT LARUT

Gunakan untuk tiap media tidak kurang dari sejumlah sediaan seperti tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3*, larutan dalam pelarut yang sesuai, air steril untuk injeksi, natrium klorida steril, atau larutan steril yang sesuai seperti *Cairan A* dan lakukan uji seperti tertera pada *Larutan dalam Air* menggunakan penyaring membran yang sesuai untuk pelarut yang telah dipilih.

### MINYAK DAN LARUTAN MINYAK

Gunakan untuk tiap media tidak kurang dari sejumlah sediaan seperti tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3*. Minyak dan larutan minyak viskositas rendah dapat disaring melalui membran kering tanpa pengenceran. Minyak kental dapat diencerkan dengan pengencer steril seperti *isopropil miristat P* yang tidak mempunyai daya antimikroba pada kondisi pengujian. Biarkan minyak menembus membran dengan gaya beratnya sendiri, kemudian saring dengan menggunakan tekanan atau penghisapan secara bertahap.

Cuci membran tidak kurang dari tiga kali dengan cara menyaring, tiap kali dengan 100 ml larutan steril yang sesuai, seperti *Cairan A* yang mengandung bahan pengemulsi yang sesuai dengan kadar yang sesuai seperti pada *Uji Kesesuaian Metode*, misalnya *polisorbate 80 P* dengan kadar 10 g per liter (*Cairan K*).

Pindahkan membran atau beberapa membran ke dalam media seperti tertera pada *Larutan dalam Air*, dan inkubasi pada suhu dan waktu yang sama.

## SALEP DAN KRIM

Gunakan untuk tiap media tidak kurang dari sejumlah sediaan seperti tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3*. Salep dengan basis lemak dan emulsi air dalam minyak dapat diencerkan sampai 1% dalam *isopropil miristat P* seperti metode diatas, jika perlu dengan pemanasan tidak lebih dari 40°. Pada kasus tertentu, mungkin diperlukan pemanasan tidak lebih dari 44°. Saring sesegera mungkin, dan lakukan seperti pada *Minyak dan Larutan minyak*.

## ALAT SUNTIK TERISI

Untuk alat suntik terisi tanpa jarum steril, keluarkan isi dari tiap alat suntik ke dalam satu atau dua tabung penyaring membran yang terpisah atau ke dalam tabung pengumpul yang terpisah untuk dipindahkan lagi.

Jika jarum steril menyatu dengan alat suntik, keluarkan langsung isi tiap alat suntik seperti diatas dan lakukan uji seperti tertera pada *Larutan dalam Air*. Uji sterilitas jarum menggunakan prosedur *Inokulasi Langsung* seperti tertera pada *Uji Kesesuaian Metode*.

## ZAT PADAT UNTUK INJEKSI SELAIN ANTIBIOTIK

Konstitusi bahan uji seperti tertera pada etiket dan lakukan pengujian seperti tertera pada *Larutan dalam Air* atau *Larutan Minyak*. [Catatan Jika perlu, dapat ditambahkan pengencer berlebih untuk membantu konstitusi dan penyaringan.]

## ZAT PADAT ANTIBIOTIK UNTUK INJEKSI

**Produk ruahan yang dikemas <5 g** Dari 20 wadah, pindahkan secara aseptik masing-masing lebih kurang 300 mg zat padat ke dalam labu Erlenmeyer steril 500 ml, larutkan dalam lebih kurang 200 ml *Cairan A*; atau konstitusi masing-masing dari 20 wadah, seperti tertera pada etiket dan pindahkan sejumlah larutan atau suspensi setara dengan 300 mg zat padat ke dalam labu Erlenmeyer steril 500 ml, larutkan dalam lebih kurang 200 ml *Cairan A*. Lakukan uji seperti tertera pada *Larutan dalam Air* atau *Minyak dan Larutan Minyak*.

**Produk ruahan yang dikemas ≥ 5 g** Dari 6 wadah pindahkan secara aseptik masing-masing lebih kurang 1 g zat padat ke dalam labu Erlenmeyer steril 500 ml, larutkan dalam lebih kurang 200 ml *Cairan A* dan campur; atau konstitusi masing-masing dari 6 wadah seperti tertera pada etiket, pindahkan sejumlah larutan yang setara dengan lebih kurang 1 g zat padat ke dalam labu Erlenmeyer steril 500 ml, larutkan dalam lebih kurang 200 ml *Cairan A*. Lakukan uji seperti tertera pada *Larutan dalam Air*.

## ZAT PADAT ANTIBIOTIK, RUAHAN DAN CAMPURAN

Secara aseptik ambil secukupnya zat padat dari sejumlah wadah yang sesuai (lihat *Tabel 2*), campur hingga diperoleh komposit yang setara dengan lebih kurang 6 g zat padat, dan pindahkan ke dalam labu Erlenmeyer steril 500 ml, larutkan dalam lebih kurang 200 ml *Cairan A*. Lakukan uji seperti tertera pada *Larutan Air*.

## SEDIAAN AEROSOL STERIL

Untuk sediaan cair dalam bentuk aerosol bertekanan, bekukan wadah dalam campuran *etanol P-es* kering pada suhu minimal -20° selama lebih kurang 1 jam. Jika memungkinkan, biarkan propelan menguap sebelum wadah dibuka secara aseptik, dan pindahkan isinya ke dalam labu pengumpul steril, tambahkan 100 ml *Cairan D* ke dalam labu pengumpul, dan campur perlahan-lahan. Lakukan uji seperti tertera pada *Larutan dalam Air* atau *Minyak dan Larutan Minyak*.

## ALAT KESEHATAN DENGAN LUMEN BERETIKET STERIL

Secara aseptik alirkan *Cairan D* sejumlah tidak kurang dari 10 kali volume lumen alat yang akan diuji. Kumpulkan cairan ke dalam labu steril yang sesuai, dan lakukan uji seperti tertera pada *Larutan dalam Air* atau *Minyak dan Larutan Minyak*.

Pada kasus alat suntik steril kosong, ambil pengencer steril melalui jarum, jika jarum terpasang pada alat, atau melalui jarum steril yang khusus dipasangkan untuk pengujian ini, dan tekan isi ke dalam labu pengumpul steril. Lakukan uji seperti diatas.

## Inokulasi Langsung ke dalam Media

Pindahkan sejumlah sediaan uji seperti tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3* langsung ke dalam media hingga volume sediaan tidak lebih dari 10% volume media, kecuali dinyatakan lain.

Jika sediaan uji mempunyai aktifitas antimikroba, lakukan uji setelah dinetralisasi dengan bahan penetral yang sesuai atau dengan cara mengencerkan dalam sejumlah media yang cukup. Jika diperlukan penggunaan volume besar dari sediaan, maka lebih baik digunakan media yang lebih pekat dan dilakukan pengenceran bertahap. Jika sesuai, media pekat dapat ditambahkan langsung ke dalam sediaan dalam wadah.

## LARUTAN MINYAK

Gunakan media yang telah ditambahkan bahan pengemulsi yang sesuai dengan kadar seperti tertera pada *Uji Kesesuaian Metode*, misalnya *polisorbat 80 P* dengan kadar 10 g per liter.



## SALEP DAN KRIM

Siapkan dengan mengencerkan lebih kurang 1 dalam 10 dengan bahan pengemulsi yang sudah dipilih ke dalam pengencer steril yang sesuai, seperti *Cairan A*. Pindahkan sediaan yang telah diencerkan ke dalam media yang tidak mengandung bahan pengemulsi.

Inkubasi media yang telah diinokulasi selama tidak kurang dari 14 hari. Amati biakan beberapa kali, selama masa inkubasi. Pada saat pengamatan, kocok secara perlahan biakan pada sediaan yang mengandung minyak setiap hari. Jika digunakan *Media Cair Tioglikolat* untuk mendeteksi mikroba anaerob, tidak boleh dikocok atau campur perlahan dengan maksud untuk mempertahankan kondisi anaerob.

## BENANG BEDAH DAN ALAT BEDAH LAIN UNTUK PENGGUNAAN DOKTER HEWAN

Gunakan untuk tiap media tidak kurang dari sejumlah sediaan seperti tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3*. Buka kemasan tersegel secara aseptik, dan masukkan tiga bagian helaian pada tiap media, lakukan seperti tertera pada *Larutan dalam Air*. Lakukan uji terhadap tiga bagian, panjang masing-masing 30 cm, yang dipotong dari awal, tengah dan ujung helaian. Gunakan seluruh helaian dari kemasan yang baru dibuka.

Pindahkan tiap bagian helaian ke dalam media yang sesuai. Gunakan media yang cukup untuk bahan yang diuji (20 - 150 ml).

## ZAT PADAT

Ambil sejumlah sediaan dalam bentuk kering padat (atau yang terlebih dahulu dibuat suspensi dalam pengencer steril dalam kemasan langsung), sesuai dengan jumlah yang tertera pada *Tabel 2* dan *Tabel 3*. Pindahkan bahan yang diperoleh ke dalam 200 ml *Media Cair Tioglikolat*, dan campur. Dengan cara sama, pindahkan sejumlah sama ke dalam 200 ml *Soybean Casein Digest Medium*, dan campur. Lakukan uji seperti diatas.

## KAPAS MURNI, PERBAN, PEMBALUT BEDAH DAN BAHAN SEJENISNYA

Dari setiap kemasan kapas, perban gulung, atau pembalut bedah yang besar, ambil secara aseptik dua bagian atau lebih masing-masing 100 - 500 mg dari bagian paling dalam. Untuk bahan dengan kemasan tunggal, ambil secara aseptik seluruh bahan. Rendam bagian dari bahan ke dalam tiap media, dan lakukan uji seperti diatas.

## ALAT KESEHATAN STERIL

Bahan dapat direndam langsung atau diuraikan. Untuk menjamin bahwa lumen juga kontak dengan media, rendam sejumlah unit yang sesuai ke dalam sejumlah volume media yang cukup untuk merendam alat dengan sempurna, dan lakukan uji seperti diatas.

Untuk alat kesehatan yang sangat besar, rendam bagian alat yang kontak langsung dengan pasien ke dalam sejumlah volume media secukupnya yang dapat membasahi seluruh bagian tersebut.

Untuk kateter yang mempunyai lumen dan bagian luarnya harus steril, potong menjadi bagian-bagian sehingga media dapat kontak dengan keseluruhan lumen atau isi lumen dengan media, dan kemudian rendam unit yang utuh.

## Pengamatan dan Penafsiran Hasil Uji

Pada interval waktu tertentu dan akhir periode inkubasi, amati secara visual adanya pertumbuhan mikroba dalam media. Jika bahan uji menimbulkan kekeruhan pada media sehingga tidak dapat ditetapkan secara visual ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba, 14 hari sejak mulai inkubasi, pindahkan sejumlah media (tiap tabung tidak kurang dari 1 ml) ke dalam media segar yang sama, kemudian inkubasi bersama-sama tabung awal selama tidak kurang dari 4 hari.

Jika tidak terjadi pertumbuhan mikroba, maka bahan uji memenuhi syarat sterilitas. Jika terbukti terjadi pertumbuhan mikroba, maka bahan uji tidak memenuhi syarat sterilitas, kecuali dapat ditunjukkan bahwa uji tidak absah disebabkan oleh hal yang tidak berhubungan dengan bahan uji. Uji dikatakan tidak absah jika satu atau lebih kondisi dibawah ini dipenuhi:

- Data pemantauan mikrobiologi terhadap fasilitas uji sterilitas menunjukkan ketidaksesuaian
- Pengkajian prosedur uji yang digunakan selama pengujian menunjukkan ketidaksesuaian
- Pertumbuhan mikroba ditemukan pada kontrol negatif
- Setelah dilakukan identifikasi mikroba yang diisolasi dari hasil uji, pertumbuhan mikroba (beberapa mikroba) dapat dianggap berasal dari kesalahan pada bahan uji, atau teknik pengujian yang digunakan pada prosedur uji sterilitas.

Jika pengujian dinyatakan tidak absah, lakukan uji ulang dengan jumlah bahan yang sama dengan uji awal. Jika tidak terbukti terjadi pertumbuhan mikroba pada uji ulang, maka contoh memenuhi syarat uji sterilitas. Jika ditemukan pertumbuhan mikroba pada uji ulang, maka contoh tidak memenuhi syarat uji sterilitas.

## Aplikasi Uji untuk Sediaan Injeksi, Sediaan Obat Mata, dan Sediaan bukan Injeksi yang Harus Memenuhi Syarat Uji Sterilitas

Jika menggunakan teknik penyaringan membran, bila memungkinkan gunakan seluruh isi wadah, tetapi tidak kurang dari sejumlah yang tertera pada *Tabel 2*, encerkan jika perlu dengan larutan steril yang sesuai, seperti *Cairan A*, hingga lebih kurang 100 ml-

Jika menggunakan teknik *Inokulasi Langsung* ke dalam media, gunakan sejumlah seperti tertera pada *Tabel 2*, kecuali dinyatakan lain. Uji untuk bakteri dan kapang pada uji sterilitas dilakukan terhadap sediaan uji yang sama. Jika volume atau jumlah isi dalam satu wadah tidak

cukup untuk pengujian, gunakan isi dari dua atau lebih wadah untuk diinokulasikan ke dalam media berbeda.

### Jumlah Minimum Sediaan Uji

Jumlah minimum sediaan yang diuji yang berhubungan dengan ukuran satu bets, tertera pada *Tabel 3*.

## DESAIN DAN ANALISIS PENETAPAN HAYATI <81>

### Umum

Potensi beberapa obat farmakope harus ditetapkan dengan uji hayati. Faktor kendali dalam desain pengujian dan analisis adalah variabilitas sistem uji hayati, yang respons rata-ratanya dapat bervariasi antar laboratorium dan dari waktu ke waktu dalam laboratorium yang sama. Untuk mengendalikan jenis variasi ini, respons obat farmakope dibandingkan terhadap *Baku Pembanding Farmakope Indonesia* atau baku pembanding lain yang sesuai. Untuk mudahnya, setiap baku pembanding tersebut disebut "Baku" dan setiap sediaan yang diuji atau contoh disebut "Uji" dan masing-masing akan dinyatakan dengan simbol *S* dan *U*.

Setelah variabel terusut dari pembandingan Baku dan Uji ditiadakan, variansi kesalahan dihitung dari variasi yang masih ada, yang meskipun tidak terkendali namun dapat diukur. Variansi kesalahan diperlukan dalam menghitung interval keyakinan dari potensi yang diuji. interval keyakinan juga disebut interval fidusial, dihitung sedemikian sehingga batas tertinggi dan batas terendah dari 20 pengujian, diharapkan 19 mendekati potensi sebenarnya sediaan uji. Banyak prosedur pengujian menetapkan rentang interval keyakinan yang dapat diterima, dan mungkin diperlukan dua atau lebih pengujian independen untuk memenuhi batas yang disyaratkan. Batas keyakinan dari masing-masing pengujian komponen umumnya tumpang tindih.

Tujuan dari bab ini ialah menyajikan perhitungan yang ringkas dari prosedur biometri untuk uji hayati Farmakope Indonesia, dengan berbagai bagiannya saling berhubungan. Meskipun prosedur dirancang terutama untuk pengujian sediaan tunggal, persamaan untuk pengujian gabungan dari beberapa sampel diberikan dalam bab ini dan disimpulkan dalam bagian akhir. Bukti bahwa pengujian potensi memenuhi syarat batas keyakinan, juga dapat didasarkan pada metode biometri lain yang mempunyai presisi sama dengan metode yang tertera disini.

Tabel istilah dalam persamaan yang digunakan diberikan pada akhir bab ini.

### Langkah-langkah yang diperlukan untuk Perhitungan Potensi

Desain untuk memperkecil variansi kesalahan Variasi respons sedapat mungkin dikurangi dengan

pembatasan bobot badan, umur, penanganan awal, lingkungan dan faktor-faktor sejenis. Pada sejumlah pengujian, hewan percobaan atau yang setara ditempatkan secara acak tetapi dalam jumlah sama untuk dosis-dosis berbeda dari Baku dan Uji. Hal ini dilakukan melalui proses acak yang objektif. Penyusunan jumlah individu yang sama pada tiap perlakuan menyederhanakan perhitungan-perhitungan berikutnya, dan umumnya mengarahkan ke interval keyakinan yang terpendek untuk sejumlah pengamatan yang telah ditentukan.

Pada beberapa pengujian, respons potensial dapat dihimpun dalam kelompok homogen di awal perlakuan. Perbedaan diantara kelompok, kemudian dipisah sehingga tidak berpengaruh buruk terhadap potensi maupun interval keyakinan. Satu unit dalam setiap kelompok yang diambil secara acak mengalami tiap perlakuan. Contoh kumpulan acak adalah daerah-daerah bening di dalam satu lempeng pada pengujian antibiotik, dan 4 pembacaan berpasangan berurutan pada tikus yang sama dalam pengujian injeksi vasopresin. Dua kelompok diperoleh jika setiap hewan percobaan digunakan dua kali, seperti pada penetapan potensi injeksi tubokurarin klorida dan injeksi insulin. Dalam hal ini baik perbedaan rata-rata di antara individu maupun urutan perlakuan tidak dapat menyebabkan penyimpangan potensi atau presisi. Pada penetapan aktivitas vitamin B<sub>12</sub> dan kalsium pantotenat secara mikrobiologi, tabung replikasi ditempatkan pada dua atau lebih kelompok lengkap yang terpisah, disusun secara acak dalam tiap kelompok. Hal ini membatasi variasi yang disebabkan posisi atau urutan dalam satu kelompok menjadi perbedaan dalam setiap replikat lengkap.

**Peniadaan data pengamatan yang menyimpang**  
Respons yang menyimpang karena tidak memenuhi prosedur selama penetapan, dikeluarkan. Nilai menyimpang yang lain mungkin ditemukan setelah respons ditabulasi, tetapi kemudian dapat dihubungkan dengan ketidakteraturan uji, yang membenarkan peniadaan nilai tersebut. Peniadaan respons yang tampak menyimpang dapat menjadi sumber bias. Secara umum, peniadaan data pengamatan hanya berdasarkan besaran relatif adalah prosedur yang sebaiknya dihindari. Jika hal ini tidak dapat dihindarkan, maka tiap respons yang dicurigai menyimpang dapat diuji dengan salah satu dari dua kriteria:

1. Kriteria pertama berdasarkan pada variasi di dalam kelompok tunggal dengan respons yang diduga setara. Secara umum, satu data pengamatan yang absah dari 25 atau 50 kali percobaan akan ditolak, sepanjang respons yang identik dalam kelompok relatif sedikit. Mulai dengan nilai yang diduga menyimpang, susun respons dalam urutan besaran dari  $y$  ke  $y_N$ ,  $N$  adalah banyaknya pengamatan di dalam kelompok. Hitung perbedaan relatif

$$G_1 = \frac{(y_2 - y_1)}{(y_N - y_1)}$$

jika  $N = 3$  hingga 7,

$$G_2 = \frac{(y_3 - y_1)}{(y_{N-1} - y_1)}$$

jika  $N = 8$  hingga 13 atau

$$G_2 = \frac{(y_3 - y_1)}{(y_{N-2} - y_1)}$$

jika  $N = 14$  hingga 24

Jika  $G_1, G_2$  atau  $G_3$  melampaui nilai kritis dalam *Tabel 1* untuk  $N$  yang diamati, maka secara statistik nilai menyimpang dapat diabaikan.

Kriteria ini juga dapat diterapkan dalam penetapan mikrobiologi yang tiap perlakuan ditunjukkan oleh transmitans dalam tiap dua kelompok lengkap terpisah. Kurangi tiap transmitans dalam kelompok pertama dengan nilai pasangannya dalam kelompok kedua, dan rekam tiap perbedaan dengan tanda positif atau negatif. Mulai dari perbedaan yang paling besar, susun  $N$  perbedaan dalam urutan besaran dari  $y_1$  hingga  $y_N$  dan hitung perbedaan relatif  $G_1, G_2$  atau  $G_3$ . Jika melampaui nilai kritis dalam *Tabel 1*, maka satu dari dua transmitans memberikan perbedaan yang diduga menyimpang dan dapat diidentifikasi dengan pemeriksaan atau membandingkan dengan nilai yang diharapkan (lihat kolom berikut). Ulangi proses dengan perbedaan yang masih tersisa bila suatu nilai yang menyimpang diperkirakan ada di pasangan kedua.

2. Kriteria kedua membandingkan rentang dari satu seri  $k = 2$  kelompok atau lebih. Kelompok yang berbeda dapat mengalami perlakuan yang berbeda, tetapi semua  $f$  respons dalam tiap kelompok mewakili perlakuan yang sama. Hitung rentang tiap kelompok dengan cara respons tertinggi dikurangi respons terendah dalam masing-masing dari  $k$  kelompok. Nilai rentang  $k$  terbesar dibagi dengan jumlah semua rentangan yang ada dalam seri adalah  $R^*$ . Rujuk  $R^*$  ini kepada *Tabel 2*. Jika  $k$  tidak lebih besar dari 10, gunakan nilai dari bagian atas *Tabel 2*; bila  $k$  lebih besar dari 10, kalikan  $R^*$  dengan  $(k + 2)$  dan bila perlu interpolasikan di antara nilai-nilai dari bagian bawah *Tabel 2*. Jika  $R^*$  melebihi nilai tabel atau hasil interpolasinya, kelompok dengan rentang terbesar dicurigai dan pemeriksaan komponennya biasanya akan mengidentifikasi pengamatan yang diperkirakan menyimpang. Proses dapat diulangi dengan rentangan yang tersisa apabila diduga ada yang menyimpang di kelompok kedua.

**Penggantian nilai yang hilang** Sebagaimana disebutkan dalam monografi dan pada bab ini, perhitungan potensi dan interval keyakinan dari respons total untuk tiap dosis sediaan memerlukan jumlah pengamatan yang sama dalam tiap respons total. Jika pengamatan hilang atau diperoleh respons tambahan dari baku, maka kesetimbangan dapat diperbaiki dengan satu dari prosedur berikut hingga dapat digunakan persamaan yang biasa.

1. Kurangi jumlah pengamatan dalam kelompok yang lebih besar sehingga jumlah respons sama untuk tiap perlakuan. Jika hewan ditetapkan secara acak pada tiap kelompok perlakuan, maka tiadakan satu atau lebih respons yang dipilih secara acak dari tiap kelompok yang lebih besar, atau kurangkan harga rata-rata tiap kelompok yang lebih besar dari total awal bila diperlukan. Teknik yang disebut terakhir lebih disukai jika dengan sengaja menambahkan hewan berlebih ke dalam kelompok baku. Bila penetapan terdiri dari kumpulan acak, maka gunakan hanya kumpulan yang lengkap.

2. Sebagai alternatif kadang-kadang kelompok yang lebih kecil dapat digunakan bila jumlah respons yang hilang tidak lebih dari satu dalam suatu perlakuan atau 10% dalam keseluruhan penetapan. Penggantian untuk setiap nilai yang hilang dapat diperkirakan dengan metode *a* atau metode *b*. Satu derajat bebas ( $n$ ) dihilangkan dari variansi kesalahan  $s^2$  untuk tiap penggantian dengan metode manapun kecuali pada penetapan mikrobiologi yang setiap respons berdasarkan pada jumlah dari dua transmitans atau lebih dan hanya satu transmitans yang diganti.

(a) Jika hewan telah digunakan untuk perlakuan secara acak, tambahkan rata-rata respons sisa dalam kelompok yang tidak lengkap kepada totalnya. Pada penetapan mikrobiologi, bila satu dari dua transmitans hilang pada suatu perlakuan, tambahkan perbedaan rata-rata di antara kelompok, dihitung dari semua pasangan yang lengkap, kepada transmitans yang tersisa untuk memperoleh pengganti.

(b) Jika penetapan terdiri dari kumpulan acak, ganti nilai yang hilang dengan:

$$y' = \frac{fT'_r + kT'_i - T'}{(f - 1)(k - 1)} \quad (1)$$

$f$  adalah banyaknya kelompok;  $k$  adalah banyaknya perlakuan atau dosis dan  $T'_r, T'_i$  dan  $T'$  berturut-turut adalah nilai total untuk kumpulan acak, perlakuan dan penetapan yang didalamnya ada pengamatan yang hilang.

Jika penetapan terdiri dari  $n'$  kuadrat Latin dengan  $k$  baris yang bersamaan, nilai yang hilang diganti dengan:

$$y' = \frac{k(n'T'_c + T'_r + T'_i)}{(k - 1)(n'k - 1)} \quad (1 a)$$

$n'$  adalah banyaknya kuadrat Latin dengan  $k$  baris yang bersamaan,  $k$  adalah jumlah perlakuan atau dosis dan  $T'_c, T'_r, T'_i$  dan  $T'$  berturut-turut adalah total tidak lengkap untuk kolom, baris, perlakuan dan penetapan yang di dalamnya ada pengamatan yang hilang.

Jika lebih dari satu nilai yang hilang, substitusi rata-rata perlakuan untuk sementara pada semua tempat kecuali dari tempat kosong, dan hitung  $y'$  untuk yang lainnya dengan *persamaan 1*. Ganti tiap substitusi awal dengan *persamaan 1* dan ulangi proses dengan perkiraan berturut-turut hingga diperoleh  $y'$  yang tetap untuk tiap pengamatan yang hilang.

Tabel 1

Uji untuk nilai penyimpangan. Dalam contoh dari populasi normal, perbedaan sama atau lebih besar dari nilai  $G_1$ ,  $G_2$  dan  $G_3$  dengan probabilitas  $P = 0,02$  nilai yang menyimpang dapat terjadi hanya pada satu ujung atau dengan  $P = 0,04$  nilai-nilai yang menyimpang dapat terjadi pada kedua ujung.

$N$	3	4	5	6	7						
$G_1$	0,976	0,846	0,729	0,644	0,586						
$N$	8	9	10	11	12	13					
$G_2$	0,780	0,725	0,678	0,638	0,586	0,578					
$N$	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
$G_3$	0,602	0,579	0,559	0,542	0,527	0,514	0,502	0,491	0,481	0,472	0,464

Tabel 2

Uji untuk kumpulan yang mengandung nilai penyimpangan. Hitung rentang dari  $f$  pengamatan dalam tiap  $k$  kelompok, semua kelompok dalam suatu seri sama ukurannya. Perbandingan  $R^*$  dari rentang terbesar terhadap jumlah  $k$  rentangan yang diamati akan sama atau lebih besar dari nilai-nilai kritis berikut pada probabilitas  $P = 0,0$ .

Jumlah rentang $k$	R* kritis untuk rentangan masing-masing dari $f$ pengamatan									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
2	0,962	0,862	0,803	0,764	0,736	0,717	0,702	0,691	0,682	
3	0,813	0,667	0,601	0,563	0,539	0,521	0,507	0,498	0,489	
4	0,681	0,538	0,479	0,446	0,425	0,410	0,398	0,389	0,382	
5	0,581	0,451	0,398	0,369	0,351	0,338	0,328	0,320	0,314	
6	0,508	0,389	0,342	0,316	0,300	0,288	0,280	0,273	0,267	
7	0,451	0,342	0,300	0,278	0,263	0,253	0,245	0,239	0,234	
8	0,407	0,305	0,267	0,248	0,234	0,225	0,218	0,213	0,208	
9	0,369	0,276	0,241	0,224	0,211	0,203	0,197	0,192	0,188	
10	0,339	0,339	0,220	0,202	0,193	0,185	0,179	0,174	0,172	
Jumlah rentang $k$	$(k + 2)$ R* kritis untuk rentangan masing-masing dari $f$ pengamatan									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
10	4,06	3,04	2,65	2,44	2,30	2,21	2,14	2,09	2,05	
12	4,06	3,03	2,63	2,42	2,29	2,20	2,13	2,07	2,04	
15	4,06	3,02	2,62	2,41	2,28	2,18	2,12	2,06	2,02	
20	4,13	3,03	2,62	2,41	2,28	2,18	2,11	2,05	2,01	
50	4,26	3,11	2,67	2,44	2,29	2,19	2,11	2,06	2,01	

### Perhitungan Potensi dari Penetapan Tunggal

Petunjuk untuk perhitungan potensi dari data penetapan tunggal tertera pada masing-masing monografi. Dalam penetapan yang menekankan pada interpolasi dari kurva dosis-respons dan memenuhi kondisi untuk keabsahan uji yang ditetapkan berikut, potensi dapat dihitung dengan metode yang sesuai dengan bab ini.

Perencanaan penetapan meliputi perkiraan potensi sediaan uji agar dapat digunakan dosis yang setara dengan baku. Semakin dekat kebenaran perkiraan asal dengan hasil penetapan, semakin tepat perhitungan potensi. Perbandingan dosis tertentu dari baku, dalam µg atau unit FI terhadap dosis sediaan uji yang bersangkutan dihitung seperti tertera pada monografi, secara seragam dinyatakan sebagai *R*. Log potensi relatif dalam jumlah perkiraan awal sama dengan baku dinyatakan sebagai *M'*. Secara ideal, *M'* tidak berbeda secara signifikan dari nol. Log potensi adalah:

$$M = M' + \log R \quad (2)$$

atau

$$\text{Potensi} = P^* = \text{antilog } M = (\text{antilog } M')R$$

**Penetapan dari Penentuan Langsung Dosis Ambang** Perbandingan dosis ambang rata-rata baku dan sediaan uji memberikan potensi secara langsung. Dosis ambang ditetapkan dua kali pada setiap hewan, satu kali dengan baku dan satu kali dengan sediaan uji. Tiap dosis dikonversi kepada harga logaritmanya, perbedaan (*x*) antara kedua log-dosis ditetapkan untuk setiap hewan, dan potensi dihitung dari rata-rata perbedaan tersebut.

Pada Uji *Endotoksin Bakteri* <201>, rata-rata geometrik titik akhir pengenceran untuk sediaan uji sesuai baku (dikalikan dengan faktor pengenceran, bila dapat digunakan), memberikan kadar endotoksin dalam sediaan uji.

Pada penetapan ini, interval fidusial tergantung pada variabilitas dosis ambang.

**Penetapan tidak langsung dari hubungan antara log dosis dan respons** Umumnya dosis ambang tidak dapat diukur secara langsung; oleh karena itu, potensi ditetapkan secara tidak langsung dengan membandingkan respons dari dosis baku yang diketahui dengan satu atau lebih dosis yang sama dari sediaan uji. Dalam rentang dosis yang terbatas, biasanya suatu respons yang sesuai dapat digambar sebagai suatu garis lurus terhadap log-dosis, merupakan kondisi yang menyederhanakan perhitungan potensi dan interval keyakinan. Kemiringan dan posisi hubungan log-dosis respons ditentukan dalam setiap penetapan dengan menggunakan dua atau lebih tingkat dosis baku atau lebih baik dikehendaki meliputi baku maupun sediaan uji.

Pada penetapan heparin natrium, interval antara dosis yang menghasilkan penjedalan dan yang tidak adalah sedemikian kecil sehingga kurva dosis-respons tidak

ditentukan secara tegas. Rata-rata yang bergerak digunakan sebagai ganti interpolasi log-dosis yang menyebabkan 50% penjedalan baik pada baku maupun sediaan uji yang menuntun ke log potensi (seperti tertera pada perhitungan Heparin Natrium). Presisi potensi diperkirakan dari kesesuaian diantara penetapan yang berdiri sendiri dari kesediaan uji yang sama.

Untuk obat yang ditetapkan secara hayati, kurva respons terhadap log-dosis pada rentang dosis yang memadai, harus berupa garis lurus. Jika diperlukan uji pendahuluan atau penetapan tergantung pada interpolasi dari kurva multi-dosis baku, gambarkan di kertas koordinat kurva respons rata-rata baku tiap tingkat dosis pada ordinat terhadap log-dosis *x* pada absis. Jika secara prinsip garis cenderung linier dalam rentang dosis yang ditentukan, maka unit respons awal dapat digunakan langsung sebagai *y*; jika garis jelas merupakan lengkungan, transformasi yang sesuai tiap pembacaan awal dapat menghasilkan linieritas.

Salah satu transformasi yang mungkin ialah logaritma; cara lain pada penetapan mikrobiologi cara tabung, *y* = (100 - % transmitans) yang terhadap log-dosis *x* tidak membentuk garis linier, maka diubah ke nilai probit. Dalam hal ini bila serapan tidak dapat dibaca langsung, maka % transmitans untuk tiap tabung atau larutan uji lebih dulu diubah menjadi serapan:  $A = 2 - \log (\% \text{ transmitans})$ . Setiap nilai serapan kemudian diubah menjadi % pengurangan pertumbuhan bakteri sebagai:

$$\% \text{ penguranga } n = \frac{100 (\bar{A}_c - A)}{A_c}$$

$\bar{A}_c$  adalah kerapatan rata-rata untuk tabung kontrol (tanpa antibiotik atau dengan vitamin berlebih) dalam kelompok atau rak tabung yang sama. Persentase pengurangan kemudian diubah ke dalam nilai probit seperti tertera pada *Tabel 3* hingga diperoleh harga *y* yang baru untuk semua perhitungan selanjutnya. Transformasi probit memberikan keuntungan dalam hal memperlebar rentang kerja dari linieritas, bahkan bila sebagian dari hubungan dosis-respons tidak linier dalam unit asal dari 100% transmitans, asalkan masa inkubasi tidak diperpanjang melewati fasa logaritma pertumbuhan dalam tabung kontrol.

LD<sub>50</sub> pada Uji keamanan injeksi besi dekstran dihitung menggunakan log-dosis dan probit. Keempat dosis injeksi dalam mg besi per kg bobot badan diubah menjadi  $x_1 = 2,574$ ,  $x_2 = 2,699$ ,  $x_3 = 2,875$  dan  $x_4 = 3000$ . Nilai probit sesuai jumlah kematian yang diamati dalam tiap kelompok 10 tikus dinyatakan berturut-turut sebagai  $y_1$ ,  $y_2$ ,  $y_3$  dan  $y_4$  dan diberikan pada *Tabel 3* untuk kematian dari 10% hingga 90%. Untuk kematian yang diamati dari 0 dan 10 terdekat ke dosis yang menyebabkan separuh kematian gunakan pendekatan probit berturut-turut 3,02 dan 6,98; hilangkan nilai akhir (pada  $x_1$  atau  $x_4$ ) bila tidak berdekatan dengan separuh kematian. Oleh karena informasi dalam probit bervariasi dengan yang diharapkan, tetapkan pendekatan bobot relatif *w* tiap probit, untuk menghitung LD<sub>50</sub> injeksi seperti diperlihatkan pada tabel berikut.

**Tabel 3**  
**Probit (deviasi normal + 5) sesuai dengan persentase dalam margin**

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

**Tabel 4**

Koefisien  $x$ . untuk menghitung respons  $Y_L$  dan  $Y_H$  diperkirakan oleh kuadrat terkecil pada  $k$  log-dosis nilai terendah dan tertinggi jika ditempatkan pada interval yang sama.

Jumlah Dosis	Y akhir yang diperkirakan	1	2	3	4	5	6	Pembagi
3	$Y_L$	5	2	-1				6
	$Y_H$	-1	2	5				6
4	$Y_L$	7	4	1	-2			10
	$Y_H$	-2	1	4	7			10
5	$Y_L$	3	2	1	0	-1		5
	$Y_H$	-1	0	1	2	3		5
6	$Y_L$	11	8	5	2	-1	-4	21
	$Y_H$	-4	-1	2	5	8	11	21

Jumlah kematian	0 atau 10	1 atau 9	2 atau 8	3 atau 6	4 atau 6
Bobot, w	0,3	0,7	1,0	1,2	1,3

Hitung rata-rata yang tertimbang

$$\bar{x} = \frac{\sum(wx)}{\sum w}$$

dan

$$\bar{y} = \frac{\sum(wy)}{\sum w} \quad (2a)$$

dari jumlah bobot,  $\sum w$ , empat (atau tiga) respons yang dapat diterima dalam jumlah log-dosis tertimbang yang sama,  $\sum (wx)$ , dan dari probit,  $\sum (wy)$ . Dari jumlah produk tertimbang,  $\sum (wxy)$  dan kuadrat tertimbang,  $\sum (wx^2)$ , hitung kemiringan  $b$  dari garis log-dosis probit dengan rumus:

$$b = \frac{\sum(wxy) - \bar{x} \sum(wy)}{\sum(wx^2) - \bar{x} \sum(wx)} \quad (2b)$$

$LD_{50}$  untuk uji keamanan ini, dalam mg besi per kg bobot tubuh, dihitung dengan rumus:

$$LD_{50} = \text{anti log}(\bar{x} + (5 - y) / b) \quad (2c)$$

Pada penetapan kuantal yang tidak termasuk dalam Farmakope ini, seperti penetapan insulin dengan mencit, perhitungan dengan probit meliputi pengaturan lain yang tidak tercantum di sini.

Jika kurva respons rata-rata  $\bar{y}$ , dari tiap dosis baku terhadap log-dosis berbentuk linier, dan  $k$  dosis ditempatkan dalam interval yang sama pada skala logaritma, respons yang diperkirakan ( $Y_L$  dan  $Y_H$ ) pada ujung dari garis yang paling sesuai dapat langsung dihitung dengan koefisien  $x$ . dari Tabel 4, yang sesuai dengan  $k$  log-dosis yang berturut-turut, dengan rumus:

$$Y_L = \frac{\sum(x \cdot \bar{y}_1)}{\text{pembagi}}$$

dan

$$Y_H = \frac{\sum(x \cdot \bar{y}_1)}{\text{pembagi}}$$

$\Sigma$  berarti jumlah dari nilai-nilai yang mengikutinya. Jika dibuat kurva  $Y_L$  dan  $Y_H$  terhadap log-dosis rendah dan tinggi,  $X_L$  dan  $X_H$ , nilai-nilai tersebut dapat dihubungkan dengan suatu garis lurus dengan kemiringan:

$$b = \frac{(Y_H - Y_L)}{(X_H - X_L)} \quad (4)$$

Pada suatu log-dosis  $x$  baku yang dipilih respons yang diperkirakan adalah:

$$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) \quad (5)$$

$\bar{x} = (\Sigma x)/k$ , dan  $\bar{y} = (Y_L + Y_H)/2$  atau untuk perkiraan di dalam suatu kumpulan,  $y$  adalah respons rata-rata untuk baku dalam kumpulan.

Jika hubungan log-dosis respons adalah linier, tetapi  $k$  dosis (dinyatakan dalam ml) terletak dalam urutan aritmetik seperti dalam *Tabel 5* yang merujuk pada

*Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi <131>*, kemiringan  $b$  dari garis lurus yang paling sesuai dapat dihitung dengan ketentuan dalam *Tabel 5* dan respons rata-rata pada tiap dosis  $\bar{y}_i$  atau  $T_i = f \bar{y}_i$  yang jumlah  $y's(f)$  adalah tetap untuk tiap dosis, sebagai:

$$b = \frac{\Sigma(x_i \bar{y}_i)}{e_b i} = \frac{\Sigma(x_i T_i)}{f e_b i} \quad (6)$$

Koefisien  $x_i$  adalah faktor pengali yang baik dari perbedaan  $(x - \bar{x})$  di sekitar log-dosis rata-rata  $\bar{x}$ , dan  $e_b i$  adalah faktor pengali yang sesuai dari  $\Sigma(x - \bar{x})^2$ . Respons  $Y$  perkiraan pada suatu log-dosis  $X$  dapat dihitung dengan mensubstitusi kemiringan penetapan  $b$  dalam persamaan 5 dan rata-rata  $\bar{y}$  baik dari semua respons baku pada seluruh penetapan ataupun dari tiap kumpulan secara terpisah.

**Tabel 5**

Koefisien  $x_i$  untuk menghitung kemiringan  $b$  dari kurva log-dosis respons jika dosis ditempatkan pada skala aritmetik

Jumlah dosis	Koefisien $x_i$ untuk menghitung $b$ dari respons $y$ pada dosis, dalam ml						Pembagi $e_b i$	Log dosis rata-rata
	1	1,5	2	3	4	5		
4	-	-29	-12	12	29	-	14,4663	0,38908
5	-34	-	-9	5	15	23	24,7827	0,41584
5	-	-20	-11	2	11	18	13,3249	0,45105
6	-15	-8	-3	4	9	13	14,1017	0,37588

**POTENSI YANG DIINTERPOLASI DARI KURVA BAKU**

Jika kurva log-dosis respons baku suatu penetapan merupakan garis lengkung dan secara grafik menghubungkan titik-titik, jumlah baku yang diharapkan menghasilkan tiap respons  $y$  yang diamati dari sediaan uji diperkirakan dengan jalan interpolasi dari kurva dan kemudian ditentukan kadar dari larutan uji tersebut.

Jika respons baku dapat dibuat linier terhadap log-dosis, maka secara numerik dihubungkan oleh garis lurus, seperti dijelaskan pada bagian terdahulu, untuk penetapan dalam kumpulan acak, kurva baku dihitung

dengan  $b$  untuk penetapan dan untuk  $\bar{y}$  untuk tiap kumpulan dan respons  $y_U$  dalam tiap tabung sediaan uji dalam kumpulan tersebut diubah ke log-potensi relatif perkiraan.

$$X = \frac{(y_U - Y_S)}{b} \quad (7)$$

$Y_S$  adalah respons yang diperkirakan dengan kurva baku pada log-dosis  $x$  perkiraan sediaan uji. Rata-rata perkiraan terpisah setiap  $f$  kumpulan,  $M' = \Sigma X/f$  adalah log-potensi relatif sediaan uji.

Tabel 6

Koefisien faktorial  $x_1$  untuk analisis uji hayati tertimbang, log-dosis baku yang berturutan ( $S_i$ ) dan sediaan uji ( $U_i$ ) dipilah sama, masing-masing dengan banyaknya respons yang sama ( $f$ ) yang mempunyai jumlah keseluruhan  $T_i$

Desain	Baris	Koefisien faktorial $x_1$ untuk tiap dosis								$ei$	$T_i$
		$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$	$U_1$	$U_2$	$U_3$	$U_4$		
2,2	$a$	-1	-1			1	1			4	$T$
	$b$	-1	1			-1	1			4	$T^a$
	$ab$	1	-1			-1	1			4	$T_{ab}^b$
3,3	$a$	-1	-1	-1		-1	-1	1		6	$T$
	$b$	-1	0	1		1	0	1		4	$T^a$
	$ab$	1	0	-1		-1	0	1		4	$T^b$
	$q$	1	-2	1		1	-2	1		12	$T^{ab}$
	$aq$	-1	2	-1		-1	-2	1		12	$T_{aq}^q$
4,4	$a$	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	8	$T$
	$b$	-3	-1	1	3	-3	-1	1	3	40	$T^a$
	$ab$	3	1	-1	-3	-3	-1	1	3	40	$T^b$
	$q$	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	8	$T^{ab}$
	$aq$	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	8	$T_{aq}^q$

Untuk menghitung	Persamaan No.	Tetapan	Nilai tetapan untuk Desain		
			2,2	3,3	4,4
$M'$	8,10	$c$	1	4/3	5
$L$	26,29	$c'$	1	8/3	5

**Penetapan faktorial dari respons tiap perlakuan** Jika beberapa fungsi dari respons dapat dibuat linier terhadap log-dosis, potensi yang diuji dihitung dari respons total untuk tiap perlakuan dan presisinya diukur berdasarkan interval keyakinan. Hal ini memerlukan (1) dalam unit yang sesuai respons  $y$  bergantung secara linier pada log-dosis dalam rentang dosis penetapan dan (2) banyaknya ( $f$ ) respons adalah sama pada setiap tingkat dosis, baik baku maupun sediaan uji. Nilai  $y'$  dijumlah pada tiap tingkat dosis setiap sediaan. Pada kombinasi yang berbeda, total keseluruhan,  $T_i$ , menunjukkan secara langsung log-potensi relatif dan keabsahan penetapan uji. Koefisien faktorial pada Tabel 6, 7 dan 8 menunjukkan cara penggabungannya. Dalam suatu baris tertentu tiap  $T_i$  dikalikan dengan koefisien yang bersangkutan dan hasil kali dijumlahkan untuk memperoleh  $T_i$  dalam baris-baris berikutnya mempunyai arti yang sama dalam semua penetapan.

$T_a$  dalam baris pertama mengukur perbedaan dalam respons rata-rata baku dalam sediaan uji.  $T_b$  dalam baris kedua mengantarkan secara langsung kepada kemiringan gabungan dari kurva dosis-respons untuk baku dan sediaan uji. Baris ketiga sampai kelima ( $ab$ ,  $q$  dan  $aq$ ) digunakan untuk menguji keabsahan penetapan, seperti diterangkan pada bagian lebih lanjut. Dari total  $T_a$  dan  $T_b$ , hitung log-potensi relatif sediaan uji, sebelum disesuaikan untuk potensi perkiraannya sebagai:

$$M' = ciT_a / T_b \quad (8)$$

$i$  adalah interval dalam logaritma antara log-dosis yang berurutan baik baku maupun sediaan uji dan tetapan  $c$  diberikan terpisah dbagian bawah tiap Tabel. Setiap  $M'$  dikoreksi menjadi log-potensi  $M$  dengan persamaan 2. Jika dosis-dosis ditempatkan tidak sama pada skala log seperti dalam Tabel 8, sebagai gantinya gunakan tetapan  $ci$  pada bagian bawah Tabel.

Dalam penetapan kadar yang seimbang, seperti pada penetapan kortikotropin, hitung  $M'$  dengan koefisien dalam Tabel 6. Jika satu sediaan mempunyai kurang satu dosis dari yang lainnya tetapi log-dosis yang berturutan dari baku dan sediaan uji keduanya mempunyai selisih sebesar tetapan interval  $i$ , gunakan koefisien faktorial pada Tabel 7, untuk koreksi perbedaan sebenarnya diantara log-dosis rata-rata yang diamati, hitung dengan rumus:

$$M' = x_s - x_U + M' \quad (9)$$



Tabel 7

Koefisien faktorial  $x_i$  untuk menganalisis penetapan tertimbang parsial log-dosis baku yang berturutan ( $S$ ) dan sediaan uji ( $U_i$ ) dipilah sama, masing-masing dengan banyaknya ( $f$ ) respons yang sama dengan jumlah keseluruhan  $T_i$ . Jika banyaknya dosis yang berurutan dari sediaan uji lebih satu dari banyaknya pada baku, tukar tempat  $S_i$  dan  $U_i$  dalam judul dibalikkan semua tanda dalam baris a, ab dan aq.

Desain	Baris	Koefisien faktorial $x_i$ untuk tiap dosis							$e_i$	$T_i$
		$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$	$U_1$	$U_2$	$U_3$		
2,1	a	-1	-1			2	1		6	$T_a$
	b	-1	1			0	1		2	$T_b$
3,2	a	-1	-1	-1		-1	-1	1	6	$T$
	b	-1	0	1		1	0	1	4	$T^a$
	ab	1	0	-1		-1	0	1	4	$T^b$
	q	1	-2	1		1	-2	1	12	$T^a$
4,3	a	-3	-3	-3	-3	4	4	4	84	$T$
	b	-3	-1	1	3	-2	0	2	28	$T^a$
	ab	3	1	-1	-3	-5	0	5	70	$T^b$
	q	3	-3	-3	3	2	-4	2	60	$T^{ab}$
	aq	-1	1	1	-1	1	-2	1	10	$T^{aa}$

Untuk menghitung	Persamaan No.	Tetapan	Nilai tetapan untuk Desain		
			2,1	3,2	4,3
$M'$	8,10	c	1/2	5/6	7/6
L	26,29	c'	3/4	25/12	49/12

Pada penetapan dengan dosis yang berturutan tidak ditempatkan dalam log-interval yang sama, log-potensi relatif dari sediaan uji tunggal dapat dihitung dengan persamaan 8 dengan koefisien faktorial dan  $e_i$  pada Tabel 8.

Pada penetapan dengan dua atau lebih sediaan uji menggunakan baku yang sama, dengan garis dosis-respons yang sejajar di dalam kesalahan eksperimental, tiap log-potensi relatif dapat dihitung dengan kemiringan penetapan yang sama sebagai berikut: Untuk tiap sediaan, tentukan faktor kemiringan  $Tb' = \sum(x_i T_i)$  atau  $\sum(x_i Y)$ , harga-harga  $x_i$  adalah koefisien faktorial untuk baku dalam baris yang sesuai b dari Tabel 6 atau Tabel 8. Log-potensi relatif dari tiap sediaan uji adalah:

$$M' = cih'T_a / 2 \sum T_b' \quad (10)$$

$h'$  adalah banyaknya harga-harga  $T_b'$ , yang dijumlahkan dalam denominator.

**Penetapan dari perbedaan respons** Jika dosis baku dan sediaan uji dibuat berpasangan dan perbedaan respons dihitung untuk tiap pasangan, perbedaan ini tidak dipengaruhi oleh variasi dalam kepekaan rata-rata pembacaan pasangan. Penetapan insulin dengan 2 dosis yang dibuat berpasangan, sesuai dengan desain pertama dalam Tabel 6, dan memerlukan empat kumpulan kelinci yang sama, masing-masing disuntik dua kali seperti tertera pada *Penetapan Potensi Insulin* <161>. Perbedaan ( $y$ ) dalam respons gula darah dari tiap kelinci terhadap kedua perlakuan mengarah ke log-potensi relatif  $M'$  (lihat dua paragraf pertama dari bab *Perhitungan potensi dari penetapan tunggal*). Injeksi Oktositosin ditetapkan berdasarkan perubahan tekanan darah pada hewan percobaan tunggal setelah penyuntikan bergantian dari dosis tunggal baku dan satu dari dua dosis sediaan uji. Perhitungan potensi dari perbedaan respons sediaan uji dan rata-rata dari dua respons yang berdekatan baku adalah setara dengan desain pertama pada Tabel 7 dengan membalikkan S dan U, I adalah log-interval di antara dua tingkat dosis sediaan uji.

Tabel 8

Koefisien faktorial  $x_i$  untuk menganalisis penetapan dengan sekuen 3- atau 4-dosis sebesar 1,5; 2,0; 3,0 dan 4,0 tiap dosis mempunyai banyak respons ( $f$ ) yang sama

Desain	Baris	Dosis Baku				Dosis sediaan Uji				$e_i$	$T_i$
		1,5	2,0	3,0	4,0	1,5	2,0	3,0	4,0		
4,4	a	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	8	$T$
	b	-29	-12	12	29	-29	-12	12	29	3940	$T^a$
	ab	29	12	-12	-29	-29	12	12	29	3940	$T^b$
	q	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	8	$T^{ab}$
	aq	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	8	$T^{aq}$
3,3	a	-1	-1	-1		1	1	1		6	$T_i$
	b	-25	-3	28		-25	-3	28		2836	$T$
	ab	25	3	-28		-25	-3	28		2836	$T^a$
	q	31	-53	22		31	-53	22		8508	$T^b$
	aq	-31	53	-22		31	-53	22		8508	$T^{ab}$ $T^{aq}$
3,3	a		-1	-1	-1		1	1	1	6	$T$
	b		-28	3	25		-28	3	25	2836	$T^a$
	ab		28	-3	-25		-28	3	25	2836	$T^b$
	q		22	-53	31		22	-53	31	8508	$T^{ab}$
	aq		-22	53	-31		22	-53	31	8508	$T^{aq}$

**Kesalahan Eksperimental dan Uji Keabsahan Penetapan** Istilah yang digunakan di sini, "kesalahan eksperimental", merujuk ke variasi sisa dalam respons dari indikator biologik, bukan untuk kesalahan dalam prosedur atau untuk nilai menyimpang yang memerlukan penggantian. Kesalahan eksperimental diukur berkenaan dengan variansi kesalahan pada respons tunggal atau unit lain, yang dinyatakan secara seragam sebagai  $s^2$ , meskipun ada perbedaan dalam definisi unit. Hal ini diperlukan dalam uji keabsahan penetapan dan dalam menghitung interval keyakinan.

**Variansi Kesalahan Dosis Ambang Masing-masing** dosis ambang diukur secara langsung dalam beberapa penetapan. Pada penetapan Digitalis masing-masing dosis ambang dinyatakan dengan simbol  $z$ , banyaknya atau frekuensi  $z$  oleh  $f$ , dan jumlah dari  $z$  untuk tiap sediaan oleh  $T$ , dengan subskrip  $S$  dan  $U$  masing-masing untuk baku dan sediaan uji. Hitung variansi kesalahan dari  $z$  sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum z^2 - \frac{T_s^2}{f_s} - \frac{T_U^2}{f_U} \right]}{n} \quad (11)$$

$n = f_s + f_U - 2$  derajat bebas. Dalam penetapan lain, tiap log-dosis ambang sediaan uji yang diinjeksikan dikurangi log-dosis baku yang bersangkutan pada kelinci yang sama untuk memperoleh perbedaan individual  $x$ . Karena tiap  $x$  mungkin positif atau negatif (+ atau -),

maka perlu diperhatikan tanda yang benar pada semua penjumlahan. Nyatakan total  $x$  untuk hewan yang diinjeksi dengan baku pada hari kedua sebagai  $T_2$ . Hitung variansi kesalahan dari  $x$  dengan  $n = N - 2$  derajat bebas sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum x^2 - \frac{T_s^2 + T_2^2}{f} \right]}{n} \quad (12)$$

$N$  adalah total jumlah kelinci untuk menyelesaikan penetapan, tidak termasuk penggantian nilai hilang untuk menyelamatkan ukuran dari dua kumpulan.

**Variasi kesalahan dari Respons Individual** Pada penetapan di farmakope, perbedaan dalam dosis yang mengubah respons rata-rata diperkirakan tidak mempengaruhi variabilitas dalam respons. Perhitungan variansi kesalahan tergantung pada desain penetapan dan bentuk pengaturan untuk setiap nilai yang hilang. Tiap respons lebih dulu diubah ke dalam unit  $y$  yang digunakan dalam menghitung potensi. Tentukan variansi kesalahan tunggal dari kombinasi deviasi  $y$  sekitar rata-rata untuk tiap tingkat dosis, jumlahkan untuk setiap tingkat. Nilai  $y$  yang meragukan dapat diuji seperti dijelaskan pada *Peniadaan data pengamatan yang menyimpang*, dan nilai menyimpang yang telah terbukti dapat diganti sebagai nilai yang seperti tertera pada *Penggantian nilai yang hilang*.

Dalam desain yang paling sederhana, unit respons

diatur secara acak untuk tiap tingkat dosis, seperti pada penetapan kortikotropin. Jika nilai yang hilang diganti dengan menambahkan rata-rata  $y$  yang tersisa pada suatu tingkat dosis kepada totalnya, maka derajat bebas ( $n$ ) pada variansi kesalahan dikurangi dengan satu untuk tiap penggantian, tetapi tidak diperlukan perubahan lain dalam perhitungan. Dengan menganggap bahwa  $f$  sama untuk semua dosis atau kelompok, hitung variansi kesalahan dari variasi dalam dosis untuk semua nilai  $y$  sebagai berikut:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \frac{T_i^2}{f} \right]}{n} \quad (13)$$

$T_i$  adalah total pada tiap dosis dari nilai  $f$  dari  $y$ , terdapat sebanyak  $k$  total  $T_i$ , dan derajat bebas  $n = \sum f - k$ , dengan  $\sum f$  dikurangi 1 untuk penggantian.

Jika variasi dalam  $f$  diatur dengan mengurangi nilai rata-rata kelompok dari total kelompok, hitung variansi kesalahan dari  $y$  yang diamati dan total  $T_i$  yang tidak diatur sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \sum \left( \frac{T_i^2}{f} \right) \right]}{n} \quad (14)$$

$$n = f - k$$

Dalam perhitungan hasil penetapan menggunakan koefisien dari *Tabel 6* atau *Tabel 8*,  $s^2$  dapat dihitung dari respons  $y$  untuk tiap  $h$  sediaan, meliputi  $h$  sediaan uji dan tingkat dosis baku yang berkaitan. Untuk tiap sediaan, hitung  $T^1 = \sum y$  dan faktor kemiringan  $T_b = (x_1 y)$ , nilai dari  $x_1$  adalah koefisien faktorial untuk baku pada baris  $b$  yang sesuai *Tabel 6* atau *Tabel 8*. Variansi kesalahan penetapan adalah:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \frac{\sum T^2}{k} - \frac{2(\sum T_b)^2}{h^1 e_b f} \right]}{n} \quad (15)$$

derajat bebas  $n = h^1(k - 1) - 1$ , dan  $e_b$  adalah  $e_i$  dari *Tabel* dan baris yang sama sebagai koefisien  $x_1$ .

**Variasi kesalahan pada Desain Terbatas** Pada beberapa penetapan, respons individual terjadi dalam tiga atau lebih kumpulan acak. Contoh kumpulan adalah pasangan hewan dalam penetapan vitamin D, daerah-daerah bening dalam tiap lempeng pada penetapan antibiotik. Masing-masing nilai  $y$  dari penetapan ini disusun dalam *Tabel* dua arah, tiap kolom menunjukkan perlakuan atau dosis yang berbeda dan tiap baris menunjukkan kumpulan acak. Nilai-nilai yang hilang dapat diganti seperti dijelaskan pada *Penggantian nilai-nilai yang hilang*. Total kolom  $k$  adalah  $T_i$  yang diperlukan untuk analisis desain tertimbang. Total baris

$f(T_i)$  menunjukkan sumber variasi yang tidak mempengaruhi potensi yang diperkirakan dan oleh sebab itu dikeluarkan dari kesalahan penetapan. Hitung perkiraan variansi kesalahan dari kuadrat masing-masing  $y$  dan jumlah marginal, sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \frac{\sum T_i^2}{k} - \frac{\sum T_i^2}{f} - \frac{T^2}{N} \right]}{n} \quad (16)$$

$T = \sum T_y = \sum T_i$ , dan  $n = (k - 1)(f - 1)$  derajat bebas harus dikurangi dengan satu untuk tiap perbedaan dalam *tabel* asal yang telah diisi dengan perhitungan.

Jika urutan perlakuan merupakan sumber variasi tambahan yang penting, pengaruhnya dapat dikoreksi dengan rejim dosis untuk suatu seri dari  $n'$  kuadrat Latin dengan  $k$  baris secara bersama. Buat *Tabel* pengamatan respons  $y$  dari tiap hewan penetapan dalam kolom yang terpisah menurut urutan dosis. Respons dari tiap  $k$  dosis terjadi sering kali sama dalam tiap  $k$  baris dan dalam  $n'k$  kolom,  $n$  adalah banyaknya kuadrat Latin. Jumlahkan respons  $y$  dalam tiap baris ( $T_r$ ) dalam tiap kolom ( $T_c$ ), dan dalam *Tabel* yang terpisah, untuk tiap dosis atau perlakuan ( $T_i$ ). Suatu pengamatan yang hilang dapat diganti menggunakan persamaan *1a* seperti dijelaskan pada *Penggantian nilai yang hilang*. Hitung variansi kesalahan dari kuadrat masing-masing  $y$  dan dari total marginal dan perlakuan sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \frac{\sum T_i^2}{n'k} - \frac{\sum T_c^2}{k} - \frac{\sum T_r^2}{n'k} - \frac{2T^2}{N} \right]}{n} \quad (16a)$$

$$T = \sum y_y = \sum T_r = \sum T_c = \sum T_i \text{ dan } N = (k - 1)(n'k - 2)$$

derajat bebas harus dikurangi dengan satu untuk tiap perbedaan dalam *tabel* asal yang telah diisi dengan perhitungan.

Pada penetapan dengan reaksi yang terjadi dalam pasangan, perbedaan di antara hewan penetapan atau reaksi pasangan secara otomatis dipisah-pisah dengan menghitung penetapan dari perbedaan dalam suatu pasangan sebagai respons. Pada insulin, respons adalah perbedaan  $y$  dalam gula darah pada kelinci tunggal setelah dua kali penyuntikan seperti tertera pada *Penetapan Potensi Insulin* <161>. Setelah pengaturan untuk kehilangan kelinci selama penetapan, hitung variansi kesalahan dan respons pada semua empat kelompok dan dari total kelompok  $T_i = T_1$  hingga  $T_4$  sebagai :

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \frac{\sum T_i^2}{f} \right]}{n} \quad (17)$$

banyaknya kelinci  $f$  adalah sama dalam tiap kelompok dan derajat bebas  $n = 4(f - 1)$ , dikurangi dengan satu untuk setiap penggantian kelinci yang hilang selama penetapan. Pada penetapan *Injeksi Oksitosin*, setiap  $y$  menunjukkan perbedaan antara respons tekanan darah terhadap suatu dosis sediaan uji dan respons rata-rata untuk dua dosis baku yang berdekatan. Hitung variansi kesalahan dari  $y$  sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum y^2 - \frac{T_1^2 - T_2^2}{f} \right]}{n} \quad (18)$$

$n = 2(f - 1)$  derajat bebas;  $T_1$  adalah total  $y$  untuk dosis rendah sediaan uji dan  $T_2$  untuk dosis tinggi.

Pada penetapan secara mikrobiologi yang dihitung dengan interpolasi dari suatu kurva baku, ubah tiap perbedaan antara respons pasangan terhadap unit log-dosis,  $X$ , menggunakan *persamaan 7*. Dengan setiap perbedaan  $X$  sebagai unit, suatu komposit  $s^2$  dihitung dari variasi nilai-nilai  $X$  dalam  $f$  untuk tiap sediaan uji, dijumlahkan dari semua  $h$  sediaan uji dalam penetapan sebagai:

$$s^2 = \frac{\left[ \sum X^2 - \sum \left( \frac{T_x^2}{f} \right) \right]}{n} \quad (19)$$

$T_x = \sum X$  untuk sediaan uji tunggal dan derajat bebas  $n^* = \sum f - h$ .

**Pengujian Keabsahan Penetapan** Sebagai tambahan pada persyaratan yang khusus dalam tiap monografi dan kombinasi kurva log-dosis respons dengan kemiringan yang signifikan seperti tertera pada *statistik C* dalam bagian selanjutnya, dua kondisi menentukan keabsahan dari masing-masing penetapan faktorial: (1) kurva log-dosis respons sediaan uji harus sejajar dengan kurva baku di dalam kesalahan eksperimental, dan (2) kedua kurva tidak menyimpang secara signifikan dari garis lurus. Jika penetapan sudah dibuat secara acak sempurna atau terdiri dari kumpulan acak, pengujian yang diperlukan adalah menghitung dengan koefisien faktorial untuk  $ab$ ,  $q$ , dan  $aq$  dari *Tabel 6* sampai *Tabel 8* dan total perlakuan  $T_i$ . Jumlahkan hasil kali koefisien dalam tiap baris yang bersangkutan dengan  $T_i$  untuk mendapatkan total hasil kali  $T_i$ , yang subskrip  $i$  masing-masing berlaku untuk  $ab$ ,  $q$ , dan  $aq$ . Masing-masing dari ketiga perbandingan  $T_i^2/ef$  dihitung dengan nilai  $e_i$  yang sesuai dari tabel dan dengan  $f$  yang sama dengan banyaknya  $y$  dalam tiap  $T_i$ . Pada baris  $ab$  diuji kesejajaran garis dosis-respons dan ini adalah satu-satunya pengujian yang ada pada penetapan dengan 2 dosis. Dengan tiga atau lebih dosis dari kedua sediaan, dalam baris  $q$  adalah pengujian lengkungan yang dikombinasi pada arah yang sama, dan dalam baris  $aq$  pengujian lengkungan yang terpisah pada arah yang berlawanan. Jika tiap perbandingan dalam penetapan

dengan 3 atau 4 dosis melebihi  $s^2$  sebesar tiga kali lipat, hitung:

$$F_3 = \frac{\sum \left( \frac{T_i^2}{ef} \right)}{3s^2} \quad (20)$$

Untuk penetapan dengan 2 dosis, hitung:

$$F_1 = \frac{T_{ab}^2}{e_{ab} fs^2} \quad (21)$$

dan untuk penetapan 3,2 (*Tabel 7*) tentukan:

$$F_2 = \frac{\sum \left( \frac{T_i^2}{ef} \right)}{2s^2} \quad (22)$$

Untuk suatu penetapan absah  $F_1$ ,  $F_2$  atau  $F_3$  tidak melebihi nilai yang tertera pada *Tabel 9* (pada kemungkinan 1 dalam 20) untuk derajat bebas  $n$  dalam  $s^2$ .

Suatu penetapan dapat tidak memenuhi uji keabsahan dan masih digunakan untuk memperkirakan potensi yang kemudian dapat dikombinasi dengan hasil penetapan yang kedua untuk sediaan uji yang sama seperti diuraikan pada bagian lebih lanjut. Suatu tingkat dosis akhir baik baku maupun sediaan uji atau keduanya dapat berada di luar daerah linier. Dengan tiga atau lebih tingkat dosis dan nilai-nilai  $T_a$ ,  $T_{ab}$ , dan  $T_{aq}$  yang relatif besar, total respons  $T_i$  pada suatu dosis akhir dari suatu sediaan dapat mendekati batas tertinggi atau terendah dan menjadi penyebab nilai-nilai yang besar  $T_{ab}$  dan  $T_{aq}$ .  $T_i$  dapat dihilangkan dan penetapan dihitung kembali dengan desain yang sesuai pada *Tabel 7*. Jika penetapan kemungkinan memenuhi pengujian dalam *persamaan 20* atau *22*, hasil potensi yang didapat,  $M$ , dapat dikombinasi dengan hasil dari penetapan kedua dalam menghitung log-potensi sediaan uji seperti tertera pada *Kombinasi dari penetapan yang berdiri sendiri*. Jika  $T_a$  tidak signifikan tetapi  $T_q$  menunjukkan garis lengkung kombinasi yang signifikan, dosis yang terbesar (atau terkecil) dari kedua sediaan yang mungkin terlalu besar (atau terlalu kecil). Penghilangan nilai-nilai tersebut dapat menghasilkan penetapan yang absah dengan koefisien faktorial untuk desain yang lebih kecil berikutnya pada *Tabel 6* atau *Tabel 8*.  $T_q$  atau  $\sum T_q$  yang signifikan secara statistik dapat diabaikan dan semua tingkat dosis dipakai tanpa menyebabkan bias log-potensi  $M'$  yang dihitung dari interval keyakinan lebih besar dari 5% apabila kesamaan berikut benar:

$$\frac{T_b^2}{e_b} > \frac{100T_q^2}{e_q}$$

atau

$$\frac{(\sum T'_b)^2}{e_b} > \frac{100(\sum T'_q)^2}{e_q} \quad (23)$$

tiap  $T'_b$  dan  $T'_q$ , dihitung dengan  $T_i$  (atau  $y$ ) untuk sediaan tunggal dikali koefisien untuk Baku dalam baris  $b$  dan  $q$  berurutan. Jika  $T_a$  dan  $T_{ab}$  keduanya signifikan pada penetapan dengan 2 dosis, satu  $T_i$  mungkin di luar daerah linier. Kadang-kadang perkiraan awal atau potensi perkiraan dapat dihitung dari nilai  $T_i$  yang tersisa dan desain pertama dalam Tabel 7. Pada penetapan insulin dan obat-obat lain yang responsnya dibuat berpasangan, uji kesejajaran sedemikian tidak peka sehingga dihilangkan. Jika tabung-tabung dalam tiap kumpulan diatur secara sistematis sebagai ganti cara acak pada penetapan mikrobiologi, uji keabsahan dapat mempunyai bias dari pengaruh posisi.

**INTERVAL DAN BATAS KEYAKINAN DARI POTENSI**

Uji hayati memberikan suatu perkiraan dari potensi sebenarnya dari sediaan uji. Perkiraan tersebut terletak dalam suatu interval keyakinan, yang dihitung sedemikian rupa sehingga kemungkinan tidak lebih dari 1 dalam 20 ( $P = 0,05$ ) bahwa potensi sebenarnya lebih besar dari batas tertinggi interval keyakinan atau lebih rendah dari batas terendah. Mengingat interval tersebut ditentukan oleh sejumlah faktor yang dapat mempengaruhi perkiraan potensi, presisi yang diperlukan untuk sebagian besar uji hayati diberikan dalam monografi dengan istilah interval keyakinan, yang berhubungan secara langsung dengan potensi atau logaritmanya.

**Perhitungan umum** Meskipun banyak bentuknya, uji hayati dapat digolongkan dalam dua kategori umum: (1) log-potensi dihitung langsung dari harga rata-rata atau perbedaan rata-rata, dan (2) dihitung dari rasio dua statistik.

(1) Bila log-potensi dari suatu penetapan dihitung sebagai rata-rata dari beberapa log-potensi yang diperkirakan mempunyai presisi lebih kurang sama, log-interval keyakinan adalah:

$$L = \frac{2st}{\sqrt{k}} \quad (24)$$

$s$  adalah deviasi baku dari log-potensi perkiraan tunggal,  $t$  dibaca dari Tabel 9 dengan derajat bebas  $n$  dalam  $s$ , dan  $k$  adalah banyaknya perkiraan yang dirata-ratakan. Persamaan yang serupa digunakan dan log-potensi dihitung sebagai rata-rata  $x$  dari  $k$  perbedaan  $x$ , dengan deviasi baku  $s$  dari suatu  $x$  tunggal. Dalam hal manapun, log-potensi  $M$  perkiraan terletak ditengah interval keyakinan, sehingga internal keyakinan adalah:

$$X_M = M + \frac{1}{2}L \text{ dan } M = M - \frac{1}{2}L \text{ atau } X_M = M \pm \frac{1}{2}L \quad (25)$$

Batas-batas tertinggi dan terendah diubah menjadi antilogaritma untuk mendapatkan batas-batas potensi yang jelas.

(2) Lebih sering, log-potensi atau potensi dihitung dari suatu rasio dan dalam hal ini panjang dari interval keyakinan dinyatakan sebagai log-interval dalam persamaan

$$L = 2\sqrt{(C-1)(CM^2 + c^2)} \quad (26)$$

**Tabel 9**

Nilai-nilai  $t$ ,  $t^2$ ,  $F_i$  dan  $X^2$  untuk derajat bebas  $n$  yang berbeda yang akan dilebihi dengan suatu probabilitas  $P = 0,05$  (atau 0,95 rentang keyakinan)\*

$n$	$t$	$T^2 = F_1$	$F_2$	$F_3$	$X^2$	$n$	$t$	$T^2 = F_1$	$F_2$	$F_3$	$X^2$
1	12,706	161,45	-	-	3,84	19	2,093	4,381	3,52	3,13	30,1
2	4,303	18,51	19,00	19,16	5,99	20	2,086	4,351	3,49	3,10	31,4
3	3,182	10,128	9,55	9,28	7,82	21	2,080	4,325	3,47	3,07	32,7
4	2,776	7,709	6,94	6,59	9,49	22	2,074	4,301	3,44	3,05	33,9
5	2,571	6,608	5,79	5,41	11,07	23	2,069	4,279	3,42	3,03	35,2
6	2,447	5,987	5,14	4,76	12,59	24	2,064	4,260	3,40	3,01	36,4
7	2,365	5,591	4,74	4,35	14,07	25	2,060	4,242	3,38	2,99	37,7
8	2,306	5,318	4,46	4,07	15,51	26	2,056	4,225	3,37	2,98	38,9
9	2,262	5,117	4,26	3,86	16,92	27	2,052	4,210	3,35	2,96	40,1
10	2,228	4,965	4,10	3,71	18,31	28	2,048	4,196	3,34	2,95	41,3
11	2,201	4,844	3,98	3,59	19,68	29	2,045	4,183	3,33	2,93	42,6
12	2,179	4,747	3,89	3,49	21,03	30	2,042	4,171	3,32	2,92	43,8
13	2,160	4,667	3,81	3,41	22,36	40	2,021	4,085	3,23	2,84	55,8
14	2,145	4,600	3,74	3,34	23,68	60	2,000	4,001	3,15	2,76	79,1
15	2,131	4,543	3,68	3,29	25,00	120	1,980	3,920	3,07	2,68	146,6

16	2,120	4,494	3,63	3,24	26,30	$\alpha$	1,960	3,841	3,00	2,60	-
17	2,110	4,451	3,59	3,20	27,59						
18	2,101	4,414	3,55	3,16	28,87						

\*adopsi dari bagian-bagian Tabel III hingga IV dari "Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research", R.A. Fisher and F. Yates, Oliver and Boyd, Ltd., Edinburgh.

$M'$  adalah log-potensi relatif seperti telah didefinisikan dalam *Perhitungan Potensi dari suatu Penetapan Tunggal*;  $i$  adalah log-interval dosis yang berurutan dan  $c$  adalah tetapan karakteristik dari prosedur penetapan. Istilah  $C$  tergantung pada ketepatan dengan kemiringan kurva dosis-respons telah ditentukan. (Hal ini kadang-kadang dinyatakan dalam istilah  $g = (C - 1)/C$ ). Dalam penetapan faktorial dihitung sebagai:

$$C = \frac{T_b^2}{(T_b^2 - e_b f s^2 t^2)} \quad (27)$$

$s^2$  adalah variansi kesalahan dari pengamatan tunggal,  $t^2$  dibaca dari *Tabel 9* dengan derajat bebas dalam  $s^2$ ;  $f$  adalah banyaknya respons dalam tiap  $T_i$  yang digunakan untuk menghitung  $T_b$  dan  $T_b$  serta  $e_b$  dihitung dengan koefisien faktorial untuk baris  $b$  dalam *Tabel 6* hingga *Tabel 8*. Variansi kesalahan  $s^2$  dalam *persamaan 26* tergantung pada desain penetapan, seperti ditunjukkan untuk setiap obat pada bagian selanjutnya. Pada penetapan yang absah  $C$  merupakan bilangan positif.

Dalam penetapan dua atau lebih sediaan uji terhadap baku bersama, semuanya dengan kurva dosis-respons yang sejajar dalam batas kesalahan eksperimental,  $C$  dapat dihitung dengan variansi kesalahan  $s^2$  untuk penetapan dan dengan kemiringan penetapan sebagai:

$$C = \frac{(\sum T_b')^2}{(\sum T_b')^2 - \frac{e_b f h' s^2 t^2}{2}} \quad (28)$$

Faktor kemiringan  $T_b' = \sum (x_i T_i)$  atau  $\sum (x_i y)$  untuk tiap  $h'$  sediaan, termasuk baku, dihitung dengan koefisien faktorial  $x_i$  untuk baku dalam baris  $b$  yang sesuai dari *Tabel 6* hingga *Tabel 8*. Jika total perlakuan  $T_i$  mencakup satu atau lebih penggantian untuk respons yang hilang, ganti  $e_b f$  dalam *persamaan 27* atau  $e_b f h'/2$  dalam *persamaan 28* dengan  $f' \sum (x_i^2 / f')$ , tiap  $x_i$  adalah koefisien faktorial dalam baris  $b$  dari *Tabel 6* hingga *Tabel 8*, dalam bab ini, dan  $f'$  adalah banyaknya respon dalam  $T_i$  yang bersangkutan, sebelum menambahkan pengganti. Dengan  $C$  ini, hitung interval keyakinan sebagai:

$$L = 2 \sqrt{(C-1) (CM'^2 + \frac{c'^2 i^2 h'}{2})} \quad (29)$$

Dalam penetapan yang dihitung dari suatu rasio, log-potensi  $M$  yang paling mungkin terletak tidak tepat di

tengah interval keyakinan. Batas keyakinan tertinggi dan terendah dalam logaritma adalah:

$$X_M = \log R + CM' + \frac{1}{2}L \quad \text{dan} \quad \log R = CM' - \frac{1}{2}L \quad (30)$$

$C$  sering kali agak lebih besar sedikit dari satuan, dan makin tepat cara penetapannya, harga  $C$  makin mendekati tepat 1.  $R = z_s/z_u$  adalah perbandingan dosis baku dan sediaan uji yang bersesuaian atau potensi perkiraan dari sediaan uji. Batas keyakinan tertinggi dan terendah dalam log-potensi diubah secara terpisah menjadi antilogaritmanya untuk memperoleh potensi yang bersesuaian.

**Interval Keyakinan untuk Penetapan Individual**  
Oleh karena interval keyakinan dapat berbeda dalam rincian dari pola-pola umum di atas, maka hitung untuk tiap penetapan dengan cara-cara khusus yang diberikan di bawah nama bahan pada paragraf berikut.

*Penetapan Antibiotik* Interval keyakinan dapat dihitung dengan *persamaan 24* dan *persamaan 25*.

*Kalsium pantotenat* Untuk log-potensi yang diperoleh dengan interpolasi dari kurva baku, interval keyakinan dapat dihitung dengan *persamaan 19* dan *persamaan 24*. Untuk log-potensi yang dihitung dengan *persamaan 8* dan *persamaan 10*,  $s^2$  dapat dihitung dengan *persamaan 15*,  $C$  dengan *persamaan 27* atau *persamaan 28*, dan interval keyakinan  $L$  dengan *persamaan 26* dan *persamaan 29*.

*Injeksi Kortikotropin* Hitung log interval keyakinan dengan *persamaan 26* dan *persamaan 27*, koefisien dan tetapan dalam *Tabel 6* untuk penetapan 3 dosis, dan  $s^2$  seperti yang ditentukan dengan *persamaan 13* atau *persamaan 14*.

*Digitalis* Hitung interval keyakinan sebagai:

$$L = 2 \sqrt{(C-1) C \left( \frac{\bar{z}_s}{\bar{z}_u} \right)^2 + \left( \frac{f_u}{f_s} \right)} \quad (31)$$

$f_u$  dan  $f_s$  adalah banyaknya pengamatan pada sediaan uji dan pada bak, dan

$$C = \frac{\bar{z}_u^2}{\bar{z}_u^2 - \frac{s^2 t^2}{f_u}} \quad (32)$$

ditentukan dengan  $s^2$  dari *persamaan 11*. Batas keyakinan untuk potensi dalam unit F1 adalah:

$$X_{p^*} = R \left[ C \left( \frac{\bar{z}_s}{\bar{z}_u} \right)^2 \pm \frac{1}{2} L \right] \quad (33)$$

definisi R dapat dilihat pada daftar istilah simbol.

*Gonadotropin Korionik* Lakukan seperti untuk *Injeksi Korikotropin*.

*Heparin Natrium* Bila dua penentuan terpisah log-potensi M berbeda lebih dari 0,05; lakukan penetapan tambahan dan hitung variansi kesalahan dari M di antara nilai-nilai N sebagai :

$$s^2 = \frac{\left[ \sum M^2 - \frac{(\sum M)^2}{N} \right]}{n} \quad (34)$$

$n = N-1$  derajat kebebasan. Dengan nilai-nilai ini, tentukan interval keyakinan dalam logaritma (L) dengan persamaan 24.

*Injeksi Insulin* Hitung variasi kesalahan ( $s^2$ ) dari y dengan persamaan 16 dan C sebagai :

$$C = \frac{T_b^2}{(T_b^2 - s^2 t^2 N)} \quad (35)$$

$t^2$  dari Tabel 9 tergantung kepada  $n = 4(f-1)$  derajat bebas dalam  $s^2$  dan  $N = 4f$  adalah jumlah dari perbedaan dalam empat kelompok. Dengan persamaan 26 hitung interval keyakinan L dalam logaritma, dengan  $c' t^2 = 0,09062$ . Batas keyakinan tertinggi dan terendah dalam unit Insulin FI diperoleh dari antilogaritma dari  $X_M$  pada persamaan 30.

*Injeksi Oksitosin* Hitung perkiraan log interval keyakinan dengan persamaan 26, sebagai berikut :

$$C = \frac{(T_2 - T_1)^2}{\left[ (T_2 - T_1)^2 \right] - \frac{4(f+1)s^2 t^2}{3}} \quad (36)$$

$s^2$  ditentukan dengan persamaan 18 dan

$$c' = \frac{4f-1}{8(f+1)} \quad (37)$$

*Aktivitas Vitamin B12* Lakukan seperti *Kalsium Pantotenat*.

### Kombinasi dari Penetapan yang Berdiri Sendiri

Bila metodenya memungkinkan, tambahan hewan dapat ditambahkan pada penetapan yang kurang presisi hingga hasil-hasil yang digabungkan mengurangi interval keyakinan dalam batas yang ditentukan dalam monografi. Jika diperlukan dua atau lebih penetapan yang berdiri sendiri, masing-masing ditujukan kepada

log-potensi M, harga M digabungkan untuk menentukan potensi rata-rata tertimbang dari sediaan uji. Kecuali pada penetapan *Heparin Natrium* yang log-potensi sama besar disetimbangkan, ketepatan relatif dua atau lebih M terpisah menentukan bobot yang ditentukan untuk setiap nilai dalam menghitung harga rata-rata dan interval keyakinannya.

Sebelum menggabungkan dua atau lebih M terpisah yang diperkirakan, konsistensi bersamanya harus diuji. Bila harga-harga M konsisten, masing-masing interval keyakinannya akan tumpang tindih atau bila tumpang tindihnya kecil, hitung harga pendekatan  $\chi_M^2$ . Tentukan dari tiap h penetapan individual suatu bobot w, yang dinyatakan sebagai :

$$w = \frac{4t^2}{L^2} \quad (38)$$

dengan panjang interval keyakinan L yang dihitung dengan persamaan yang sesuai dari bagian terdahulu, dan  $t^2$  dibaca dari Tabel 9 untuk derajat bebas n dalam variansi kesalahan pengujian. Jumlahkan masing-masing bobot untuk memperoleh  $\sum w$ . Kemudian suatu pendekatan  $\chi^2$  dengan h-1 derajat bebas ditentukan sebagai :

$$\text{Pendekatan } \chi_M^2 = \frac{\sum (wM^2) - \frac{(\sum (wM))^2}{\sum w}}{\sum w} \quad (39)$$

Untuk dua penetapan dengan log-potensi  $M_1$  dan  $M_2$  dan bobot  $w_1$  dan  $w_2$ , persamaan 35 disederhanakan menjadi :

$$\text{Pendekatan } \chi_M^2 = \frac{w_1 w_2 (M_1 - M_2)^2}{w_1 + w_2} \quad (40)$$

dengan satu derajat bebas. Jika pendekatan  $\chi_M^2$  benar-benar terletak di bawah nilai kritis  $\chi^2$  dalam Tabel 9, gunakan bobot w dalam menghitung log-potensi rata-rata M dan interval keyakinan L. Jika  $\chi_M^2$  mendekati atau melebihi nilai kritis ini, sebagai gantinya gunakan semi-bobot  $w'$  (persamaan 47 ketika menghitung M).

Hitung log-potensi rata-rata M dari dua atau lebih penetapan yang sama-sama konsisten sebagai :

$$\bar{M} = \frac{\sum (wM)}{\sum w} \quad (41)$$

Ini adalah nilai tunggal yang paling mungkin di dalam interval keyakinan gabungan dengan panjang  $L_c$  ditetapkan sebagai akar dari:

$$L_C^2 = \frac{4t^2}{\sum w} \left[ 1 + \frac{4}{\sum^2 w} \sum w \left\{ \frac{(\sum w) - w}{n'} \right\} \right] \quad (42)$$

tiap  $n' = n - 4(h-2)/(h-1)$  dan  $t_L^2$  diinterpolasi dari Tabel 9 dengan derajat bebas:

$$n_L = \frac{\sum w^2}{\sum (w^2/n)}$$

Untuk dua penetapan ( $h = 2$ ) dengan log-potensi  $M_1$  dan  $M_2$  dan bobot  $w_1$  dan  $w_2$ , persamaan di atas dapat ditulis kembali sebagai:

$$L_C^2 = \frac{4t_L^2}{\sum w} \left[ 1 + \frac{4w_1w_2}{\sum w^2} \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \right] \quad (43)$$

$\sum w = w_1 + w_2$ . Apabila  $L_c$  interval keyakinan untuk suatu perkiraan kombinasi, tidak melebihi persyaratan dalam monografi, batas keyakinan tertinggi dan terendah dalam  $\frac{1}{2} L_c$  di atas dan di bawah  $M$ , untuk memperoleh interval keyakinan mendekati 95%.

Jika variasi potensi hasil penetapan antara  $h$  penentuan terpisah, seperti diuji dengan  $\chi_M^2$ , mencapai atau melebihi  $P = 0,05$ , beberapa perkiraan ditetapkan semi-bobot  $w'$ . Dari bobot  $w$ , hitung variansi dari tiap  $M$  sebagai:

$$V = \frac{1}{w} = \frac{L^2}{4t^2} \quad (44)$$

Hitung variansi heterogenitas antara penetapan sebagai :

$$v = \frac{\sum M^2 - \frac{\sum (M)^2}{h}}{h-1} - \frac{\sum V}{h} \quad (45)$$

Atau, bila  $h = 2$

$$v = \frac{(M_1 - M_2)^2}{2} - \frac{V_1 + V_2}{2} \quad (46)$$

Bila  $V$  bervariasi secara jelas hingga  $v$  yang dihitung seperti di atas merupakan angka negatif, sebagai gantinya hitung suatu perkiraan  $v$  dengan menghilangkan bagian setelah tanda minus pada persamaan 45 dan persamaan 46.

Semi-bobot dinyatakan sebagai :

$$w' = \frac{1}{(V+v)} \quad (47)$$

Substitusi  $w'$  dan  $\sum w'$  untuk  $w$  dan  $\sum w$  dalam persamaan 41 untuk memperoleh rata-rata semi-bobot  $M$ . Hal ini terletak dekat dengan tengah interval keyakinan dari perkiraan panjang  $L_c$ ,

$$L_c^2 = \frac{4t^2}{\sum w'} \quad (48)$$

dan  $t^2$  dari Tabel 9 mempunyai  $\sum n$  derajat bebas.

Jika  $\chi_M^2$  pada persamaan 39, dari  $h = 4$  atau lebih perkiraan  $M$ , melebihi tingkat kritis dalam Tabel 9 lebih dari 50%, dan bobot  $w$  berbeda kurang dari 30%,  $h$  perkiraan dari  $M$  dapat diperiksa untuk nilai menyimpang dapat dihilangkan dalam menghitung  $M$  dengan  $w'$ .

Jika potensi obat ditetapkan berulang kali di suatu laboratorium dengan menggunakan metode uji hayati yang sama, penentuan berturut-turut dari kemiringan  $b$  dan variansi kesalahan  $s^2$  dapat tersebar secara acak di dalam kesalahan pengambilan contoh uji di sekitar nilai yang umum untuk setiap parameter. Dengan membuat kurva perkiraan dari penetapan yang berturut-turut pada suatu peta kendali mutu untuk masing-masing statistik dan menghitung nilai tengah dan batas kendali yang menyatakan variasi acak yang diperbolehkan, memungkinkan untuk memeriksa secara terus-menerus konsistensi dari suatu teknik penetapan secara terus-menerus.

Apabila perkiraan dari  $b$  dan  $s$  dari penetapan tunggal terletak dalam batas kendali, maka dapat diganti dengan rata-rata yang diperoleh laboratorium. Tolak tiap penetapan yang statistiknya berada di luar batas kendali, atau terima penetapan hanya setelah penelitian saksama validitasnya.

#### Penetapan Gabungan dari Beberapa Sediaan

Setiap monografi menguraikan penetapan dari sediaan uji tunggal terhadap baku. Meskipun tidak diberikan secara tegas, beberapa sediaan uji yang berbeda, sering dimasukkan dalam penetapan yang sama dan masing-masing dibandingkan secara terpisah dengan respons yang sama terhadap baku. Kenyataan ini menjamin bertambahnya jumlah pengamatan dengan baku. Dengan  $f$  pengamatan pada tiap tingkat dosis dari masing-masing  $h$  sediaan uji yang berbeda, jumlah pengamatan pada tiap tingkat dosis baku dapat bertambah secara menguntungkan, bila  $h$  besar, menjadi  $f\sqrt{h}$ . Aturan ini hanya dapat digunakan sebagai pendekatan di mana perbedaan-perbedaan kecil atau kesetaraan harus dipisah-pisah, dan dalam hal manapun hanyalah bersifat anjuran.

Jika semua dari beberapa penetapan yang dilakukan bersamaan memenuhi persyaratan keabsahan, dan mempunyai kurva log-dosis respons yang linier dengan kemiringan  $b$  yang sama dan variansi kesalahan  $s^2$  yang sama dari garis-garis tersebut, kedua nilai statistik tadi dapat dipandang sebagai karakteristik penetapan. Kombinasi semua bukti dari penetapan yang sama menjadi nilai tunggal kemiringan penetapan menghasilkan perkiraan  $b$  yang lebih stabil dan dapat dipercaya, dibandingkan jika setiap sediaan uji dianalisis secara terpisah. Demikian pula derajat bebas dan kehandalan dari variasi kesalahan  $s^2$  dapat bertambah. Interval keyakinan yang dihitung dengan nilai-nilai gabungan untuk  $b$  dan  $s^2$  lebih kecil dalam rata-rata dibandingkan bila berdasarkan hanya kepada bagian data yang relevan. Untuk perhitungan atau penggunaan perkiraan penetapan yang demikian lihat persamaan 10,



15, 16, 19, 28 dan 29. Potensi perkiraan dengan kemiringan yang dihitung dari sediaan uji tunggal dan baku terletak di dalam bagian dari interval keyakinan

yang dihitung dari gabungan kemiringan untuk seluruh penetapan. Karena didasarkan pada bukti, cara yang terakhir dianggap merupakan perkiraan yang lebih baik.

**DAFTAR ISTILAH**

Simbol	Keterangan
A	serapan untuk menghitung % pengurangan pertumbuhan bakteri dari pengamatan kekeruhan
b	kemiringan dari garis lurus hubungan respons (y) dengan log-dosis (x) [Persamaan 2b, 4, 5, 6]
c	tetapan untuk menghitung M' dengan persamaan 8 dan 10
c'	tetapan untuk menghitung L dengan persamaan 26 dan 29
ci	tetapan untuk menghitung M' bila dosis ditempatkan seperti tertera pada Tabel 8.
c'i <sup>2</sup>	tetapan untuk menghitung L bila dosis ditempatkan seperti tertera pada Tabel 8.
C	Simbol untuk menghitung ketepatan dari kemiringan dalam interval keyakinan [Persamaan 27, 28, 35, 36].
$\chi^2$	Tetapan statistik untuk menguji kesignifikanan suatu ketidaksesuaian [Tabel 9].
$\chi_M^2$	$\chi^2$ untuk menguji ketidaksesuaian antara log-potensi perkiraan yang berbeda [Persamaan 39, 40].
e <sub>b</sub>	e <sub>i</sub> dari baris b dalam Tabel 6 hingga Tabel 8.
e <sub>b</sub> 'i	perkalian dari $\sum (x - \bar{x})^2$ {tabel 5; Persamaan 6]
e <sub>i</sub>	jumlah kuadrat dari koefisien faktorial dalam tiap baris dari Tabel 6 dan Tabel 8.
e <sub>q</sub>	e <sub>i</sub> dari baris q dalam Tabel 6 dan Tabel 8
f	banyaknya respons pada tiap kali tingkat dosis dari suatu sediaan; banyaknya replikat atau kumpulan.
f <sub>s</sub>	banyaknya pengamatan pada baku.
f <sub>u</sub>	banyaknya pengamatan pada sediaan uji
F <sub>1</sub> hingga F <sub>3</sub>	rasio variansi yang diamati dengan derajat bebas 1 sampai 3 dalam pembilang [Tabel 9].
G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> dan G <sub>3</sub>	perbedaan relatif dalam pengujian untuk nilai yang menyimpang [Tabel 1].
h	banyaknya sediaan uji dalam penetapan ganda.
h'	banyaknya sediaan dalam penetapan ganda, termasuk baku dan h sediaan uji, h' = h + 1
i	interval dalam logaritma antara log dosis berurutan, sama untuk baku dan sediaan uji.
k	banyaknya log-potensi perkiraan dalam suatu rata-rata [Persamaan 24; banyaknya perlakuan atau dosis (Tabel 4; Persamaan 1, 13, 15, 16); banyaknya rentang atau kelompok dalam suatu seri [Tabel 2]; banyaknya baris, kolom, dan dosis dalam suatu kuadrat latin tunggal [Persamaan 1a, 16a].
L	panjangnya interval keyakinan dalam logaritma [Persamaan 24, 26, 29, 38], atau dalam pengertian ukuran dari potensi relatif dari pengenceran-pengenceran yang dibandingkan [Persamaan 48]

Simbol	Keterangan
$L_c$	panjangnya interval keyakinan gabungan [Persamaan 42, 43]
$L_c'$	panjangnya interval keyakinan untuk rata-rata semi-bobot M [Persamaan 48]
$LD_{50}$	dosis letal yang diharapkan mematikan 50% dari hewan penetapan yang diuji [Persamaan 2c]
$M$	log-potensi [Persamaan 2]
$M'$	log potensi sediaan uji, relatif terhadap potensi perkiraannya.
$\overline{M}$	log potensi rata-rata
$n$	derajat bebas dalam suatu variansi perkiraan $s^2$ atau dalam statistik $t$ atau $\chi^2$
$n'$	banyaknya kuadrat Latin dengan baris-baris yang bersamaan [Persamaan 1a, 16a]
$N$	banyaknya; misalnya, pengamatan dalam suatu pengujian celah [Tabel 1], atau respon $y$ pada suatu penetapan [Persamaan 16]
$P$	probabilitas dari pengamatan hasil tertentu, atau dari nilai-nilai tabel statistik, biasanya $P=0,05$ atau $0,95$ untuk rentang keyakinan [Tabel 1, 2, 9].
$P_*$	potensi, $P_*$ = antilog $M$ atau dihitung secara langsung
$R$	perbandingan dari dosis tertentu sediaan baku terhadap dosis yang sesuai sediaan uji yang sesuai, atau potensi perkiraan sediaan uji [Persamaan 2, 30, 33]
$R_*$	perbandingan dari rentang yang terbesar pada $k$ rentang dalam suatu seri terhadap jumlah rentang [Tabel 2]
$s = \sqrt{s^2}$	simpangan baku dari unit respons, juga dari log-potensi perkiraan tunggal dalam penetapan langsung [Persamaan 24]
$s^2$	variansi kesalahan dari unit respons.
$S_i$	log-dosis baku [Tabel 6, 7]
$\Sigma$	jumlah dari.
$t$	$t$ studen untuk $n$ derajat bebas dan probabilitas $P = 0,05$ [Tabel 9].
$T$	jumlah dari $y$ respons dalam satu penetapan [Persamaan 16]
$T'$	jumlah yang tidak lengkap untuk suatu penetapan dalam kelompok acak dengan satu pengamatan yang hilang [Persamaan 1]
$T_1$	$\Sigma (y)$ untuk hewan percobaan yang disuntik dengan sediaan baku pada hari pertama [Persamaan 18, 36]
$T_2$	$\Sigma (y)$ untuk hewan percobaan yang disuntik dengan sediaan baku pada hari kedua [Persamaan 18, 36]
$T_a$	$T_i$ untuk perbedaan dalam respons terhadap baku dan sediaan uji [Tabel 6 hingga Tabel 8]
$T_{ab}$	$T_i$ untuk menguji perbedaan kemiringan antara sediaan baku dan sediaan uji [Tabel 6 hingga Tabel 8]
$T_b$	$T_i$ untuk menguji kelengkungan yang berlawanan dalam kurva-kurva untuk baku dan sediaan uji [Tabel 6 hingga Tabel 8]

Simbol	Keterangan
$T_b$	$\sum (X_i T_i)$ atau $\sum (X_i Y)$ untuk menghitung kemiringan dari kurva log-dosis respons [Persamaan 10, 23, 28].
$T_i$	jumlah dari hasil kali $T_i$ dengan koefisien faktorial yang sesuai dalam masing-masing baris dari Tabel 6 hingga Tabel 8.
$T_q$	$T_i$ untuk menguji kelengkungan yang serupa dalam kurva-kurva untuk baku dan sediaan uji [Tabel 6 hingga Tabel 8]
$T_r$	baris atau total kumpulan dalam penetapan dengan kumpulan acak [Persamaan 16]
$T_r'$	total yang tidak lengkap untuk kumpulan acak dengan suatu pengamatan yang hilang dalam Persamaan 1.
$T_i$	total dari $f$ respons $y$ untuk dosis sediaan [Tabel 6 hingga Tabel 8; Persamaan 6, 13, 14, 16].
$T_i'$	Total yang tidak lengkap untuk perlakuan dengan suatu pengamatan yang hilang dalam Persamaan 1.
$U_i$	log dosis sediaan uji [Tabel 6 hingga Tabel 8]
$v$	Variansi untuk heterogenitas antara penetapan [Persamaan 45]
$T = \frac{1}{w}$	Variansi $M$ individual [Persamaan 44 hingga persamaan 47]
$w$	bobot yang ditetapkan untuk $M$ untuk penetapan individual [Persamaan 38], atau untuk suatu probit untuk menghitung $LD_{50}$ [Persamaan 2a, 2b]
$w'$	semi-bobot untuk tiap $M$ dalam suatu seri penetapan [Persamaan 47, 48]
$x$	log-dosis obat dalam uji hayati [Persamaan 5]; juga perbedaan antara dua log-dosis ambang pada hewan yang sama [Persamaan 12]
$x_*$	koefisien untuk menghitung respons terendah dan tertinggi yang diharapkan $Y_L$ dan $Y_H$ dalam kurva log-dosis respons [Tabel 4; Persamaan 3]
$x_i$	koefisien faktorial untuk perkalian $(x - \bar{x})$ untuk menghitung kemiringan dari garis lurus [Tabel 5; Persamaan 6]
$\bar{x}$	log-dosis rata-rata [Persamaan 5]
$\bar{x}_s$	log-dosis rata-rata untuk baku [Persamaan 9]
$\bar{x}_u$	log-dosis rata-rata untuk sediaan uji [Persamaan 9]
$X$	log-potensi dari suatu unit respons, sebagai interpolasi dari suatu kurva baku [Persamaan 7a, 7b, 19]
$X_M$	batas keyakinan untuk suatu log potensi $M$ perkiraan [Persamaan 25, 30]
$\chi_{p^*}$	batas keyakinan untuk potensi perkiraan langsung $P^*$ seperti tertera pada penetapan Digitalis [Persamaan 33]
$y$	respons individual yang diamati terhadap dosis obat dalam unit yang digunakan dalam menghitung potensi dan variansi kesalahan [Persamaan 13 hingga Persamaan 16]; perbedaan unit antara respons berpasangan dalam penetapan 2 dosis [Persamaan 17, 18]

Simbol	Keterangan
$y_1, \dots, y_N$	Respons yang diamati terdapat dalam daftar menurut urutan besarnya, untuk menghitung $G_1$ , $G_2$ atau $G_3$ dalam Tabel 1.
$y'$	penggantian untuk nilai yang hilang [Persamaan 1]
$\bar{y}$	respons rata-rata dalam satu kelompok atau penetapan [Persamaan 5]
$y_i$	respons rata-rata terhadap perlakuan tertentu [Persamaan 36]
$Y$	respons perkiraan dari hubungan dosis respons sering dengan penilaian subskrip [Persamaan 3 hingga Persamaan 5]
$z$	Penetapan dosis ambang secara langsung dengan titrasi (seperti tertera pada penetapan <i>Digitalis</i> ) [Persamaan 11]
$\bar{z}$	Dosis ambang rata-rata dalam suatu kumpulan seperti tertera pada penetapan <i>Digitalis</i> [Persamaan 31, 32, 33].

### PENETAPAN AKTIVITAS VITAMIN B12 <91>

**Baku pembanding** *Sianokobalamin BPF1*; Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan.

**Larutan uji** Ukur atau timbang saksama sejumlah zat uji, bila perlu telah diserbukhaluskan, masukkan ke dalam wadah yang sesuai berisi larutan pengekstraksi. Untuk tiap g atau ml zat uji diperlukan 25 ml larutan pengekstraksi yang dibuat segar. Tiap 100 ml pengekstraksi mengandung 1,29 g *dinatrium fosfat P*, 1,1 g *asam sitrat anhidrat P* dan 1,0 g *natrium metabisulfat P* dalam air. Campuran dipanaskan dalam otoklaf pada suhu 121° selama 10 menit. Biarkan partikel yang tidak larut mengendap, saring atau sentrifus jika perlu. Encerkan sejumlah alikot jernih dengan air hingga larutan uji akhir mengandung vitamin B<sub>12</sub> dengan aktivitas lebih kurang setara dengan aktivitas *Larutan baku sianokobalamin*, yang dimasukkan ke dalam tabung penetapan kadar.

**Larutan baku persediaan** Timbang saksama sejumlah *Sianokobalamin BPF1*, larutkan dalam *etanol P* 25% hingga kadar 1,0 µg per ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan baku** Encerkan sejumlah volume *Larutan baku persediaan* dengan air hingga volume sedemikian rupa hingga setelah masa inkubasi seperti tertera pada *Prosedur*, perbedaan transmitans antara blangko terinokulasi dan aras 5,0 ml *Larutan baku* tidak kurang dari yang setara dengan perbedaan 1,25 mg bobot sel kering. Kadar ini biasanya antara 0,01 ng dan 0,04 per ml *Larutan baku*. Buat larutan baku segar untuk setiap penetapan kadar.

**Larutan persediaan media basal** Buat media sesuai formula dan cara berikut: Campuran dehidrat yang mengandung komponen sama dapat digunakan dengan syarat ketika dikonstitusi menurut ketentuan yang tercantum pada etiket, memberikan suatu media yang

sebanding dengan yang diperoleh dari formula berikut ini. Tambahkan menurut urutan dalam daftar, larutkan secara hati-hati *L-sistin P* dan *L-triptofan P* dalam *asam klorida P* sebelum penambahan delapan larutan berikutnya dalam larutan yang diperoleh. Tambahkan 10 ml air, campur, dan larutkan *dekstrosa anhidrat P*, *natrium asetat P* dan *asam askorbat P*. Saring jika perlu, tambahkan *Larutan polisorbitat 80*, atur pH larutan antara 5,5 dan 6,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N* dan tambahkan air murni hingga 250 ml.

<i>L-Sistin P</i>	0,1	g
<i>L-Triptofan P</i>	0,05	g
<i>Asam klorida 1 N</i>	10	ml
<i>Larutan adenin-guanin-urasil</i>	5	ml
<i>Larutan xantin</i>	5	ml
<i>Larutan vitamin I</i>	10	ml
<i>Larutan vitamin II</i>	10	ml
<i>Larutan garam A</i>	5	ml
<i>Larutan garam B</i>	5	ml
<i>Larutan asparagin</i>	5	ml
<i>Larutan kasein terhidrolisis asam</i>	25	ml
<i>Dekstrosa anhidrat P</i>	10	g
<i>Natrium asetat anhidrat P</i>	5	g
<i>Asam askorbat P</i>	1	g
<i>Larutan polisorbitat 80</i>	5	ml

*Larutan kasein terhidrolisis asam* Buat seperti tertera pada *Penetapan Kadar Kalsium Pantotenat <121>*.

*Larutan asparagin* Larutkan 2,0 g *L-asparagin P* dalam air hingga 200 ml. Simpan di bawah lapisan toluen dalam lemari pendingin.

*Larutan adenin-guanin-urasil* Buat seperti tertera pada *Penetapan Kadar Kalsium Pantotenat <121>*.

*Larutan xantin* Suspensikan 200 mg xantin dalam 30 ml hingga 40 ml air, panaskan hingga suhu lebih kurang 70°, tambahkan 6,0 ml *amonium hidroksida 6 N*, aduk sampai zat padat melarut. Dinginkan dan

tambahkan air hingga 200 ml. Simpan di bawah lapisan toluen dalam lemari pendingin.

**Larutan garam A** Larutkan 10 g kalium fosfat monobasa P dan 10 g kalium fosfat dibasa P dalam air hingga 200 ml. Tambahkan 2 tetes asam klorida P dan Simpan di bawah lapisan toluen.

**Larutan garam B** Larutkan 4,0 g magnesium sulfat P; 0,20 g natrium klorida P; 0,20 g besi(II) sulfat P dan 0,20 g mangan sulfat P dalam air hingga 200 ml. Tambahkan 2 tetes asam klorida P dan simpan di bawah lapisan toluen.

**Larutan polisorbit 80** Larutkan 20 g polisorbit 80 P dalam etanol P hingga 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan vitamin I** Larutkan 10 mg riboflavin P, 10 mg tiamin hidroklorida P, 100 µg biotin P dan 20 mg niasin P dalam asam asetat glasial 0,02 N hingga 400 ml. Simpan terlindung dari cahaya dan di bawah lapisan toluen dalam lemari pendingin.

**Larutan Vitamin II** Larutkan 20 mg asam para-amino benzoat P, 10 mg kalsium pantotenat P, 40 mg piridoksin hidroklorida P, 8 mg piridiksamin hidroklorida P dan 2 mg asam folat P dalam larutan etanol netral P (1 dalam 4) hingga 400 ml. Simpan terlindung dari cahaya, dalam lemari pendingin.

**Sediaan sari tomat** Sentrifus dari tomat dalam kaleng yang dapat diperoleh di perdagangan hingga hampir seluruh daging buah terpisah. Suspensikan bahan penyaring analitik lebih kurang 5 g per liter ke dalam beningan dan saring dengan bantuan pengurangan tekanan melalui lapisan bahan penyaring. Ulangi jika perlu, hingga diperoleh filtrat jernih berwarna jerami. Simpan di bawah lapisan toluen dalam lemari pendingin.

**Media Biakan** [Catatan Campuran dehidrat yang mengandung komponen sama dapat digunakan dengan syarat jika dikonstruksi menurut ketentuan yang tercantum pada etiket memberikan suatu media yang sebanding dengan yang diperoleh dari formula berikut ini.] Larutkan 0,75 g ekstrak ragi P larut-air; 0,75 g pepton kering P; 1,0 g dekstrosa anhidrat P dan 0,20 g kalium fosfat monobasa P dalam 60 ml hingga 70 ml air. Tambahkan 10 ml Larutan sari tomat dan 1 ml Larutan polisorbit 80. Atur pH larutan 6,8 dengan natrium hidroksida 1 N dan tambahkan air hingga 100 ml. Masukkan 10 ml larutan dalam tabung reaksi dan tutup dengan kapas, sterilkan tabung dan isinya dalam otoklaf pada suhu 121° selama 15 menit. Dinginkan secepat mungkin untuk menghindari pembentukan warna akibat panas berlebih.

**Media suspensi** Encerkan sejumlah volume Larutan persediaan media basal, dengan air sama banyak. Masukkan 10 ml larutan ke dalam tabung reaksi. Sterilkan dan dinginkan seperti tertera pada Media biakan.

**Biakan persediaan** *Lactobacillus leichmannii* Tambahkan 1,0 g hingga 1,5 g agar ke dalam 100 ml Media biakan panaskan diatas tangas uap, sambil diaduk hingga agar melarut. Masukkan lebih kurang 10 ml larutan panas dalam tabung reaksi, tutup dan sterilkan pada suhu 121° selama 15 menit dalam otoklaf (dengan

pengatur suhu) dan biarkan tabung dingin dengan posisi tegak. Inokulasi dengan cara tusukan tiga atau lebih tabung dengan biakan murni *Lactobacillus leichmannii* (sebelum menggunakan pertama kali biakan segar dalam penetapan ini, lakukan pemindahan biakan paling sedikit 10 kali berturut-turut selama 2 minggu). Inkubasi selama 16 - 24 jam pada suhu yang dipilih antara 30° dan 40°, usahakan tetap dalam ± 0,5 dan akhirnya simpan dalam lemari pendingin. Buat biakan segar dalam agar tegak paling sedikit tiga kali tiap minggu dan tidak boleh digunakan untuk pembuatan inokulum jika berumur lebih dari empat hari. Aktivitas jasad renik dapat ditingkatkan dengan memindahkan biakan tegak tiap hari atau tiap 2 hari, untuk mencapai tingkat dimana ruahan dalam inokulum cair dapat diamati 2 - 4 jam setelah inokulasi. Biakan yang tumbuh lambat, jarang memberikan kurva respons yang sesuai dan dapat memberikan hasil yang salah.

**Inokulum** [Catatan Suspensi beku *Lactobacillus leichmannii* dapat digunakan sebagai biakan induk, dengan syarat menghasilkan inokulum seperti biakan segar.] Pindahkan sel dari biakan induk *Lactobacillus leichmannii*, ke dalam 2 tabung steril masing-masing berisi 10 ml media biakan. Inkubasi biakan selama 16 - 24 jam pada suhu yang dipilih antara 30° dan 40°; pertahankan suhu tetap dalam ± 0,5°. Secara aseptik sentrifus biakan dan enaptuankan beningan. Suspensikan sel dari biakan dalam 5 ml Media suspensi steril dan campur. Tempatkan volume dengan media suspensi steril sedemikian rupa hingga enceran (1 dalam 20) dalam larutan natrium klorida P 0,9% memberikan transmitrans 70% jika diukur pada panjang gelombang lebih kurang 530 nm menggunakan larutan natrium klorida P 0,9% sebagai blangko. Buat pengenceran (1 dalam 400) suspensi yang telah diukur menggunakan Larutan persediaan media basal dan gunakan untuk inokulum uji (Enceran ini dapat diubah bila perlu hingga diperoleh respons uji yang diinginkan).

**Kalibrasi spektrofotometer** Tera panjang gelombang spektrofotometer secara berkala, menggunakan sel panjang gelombang baku atau alat yang sesuai. Sebelum membaca setiap pengujian, kalibrasi spektrofotometer untuk transmitsi 0% dan 100% menggunakan air dengan panjang gelombang yang diatur pada 530 nm.

**Prosedur** Bersihkan semua alat secermat mungkin, sebaiknya dilanjutkan dengan pemanasan pada suhu 250° selama 2 jam untuk tabung reaksi kaca tahan panas dengan ukuran lebih kurang 20 mm x 150 mm dan alat kaca lainnya, karena kepekaan yang tinggi dari jasad renik uji terhadap spora bahan pencuci. Tambahkan dalam tiap tabung dari 2 seri tabung reaksi berturut-turut 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml dan 5,0 ml Larutan baku. Pada tiap tabung ini dan 4 tabung kosong yang serupa tambahkan 5,0 ml Larutan persediaan media basal dan air hingga 10 ml. Letakkan 1 seri tabung berisi Larutan baku dan Larutan uji di dalam satu rak dan seri kedua dalam rak lain atau bagian dari rak, sebaiknya letakkan urutan tabung secara acak. Tutup tabung untuk menghindari kontaminasi bakteri dan sterilkan dalam otoklaf pada suhu 121° selama 5 menit, bila perlu atur

supaya suhu tersebut tercapai tidak lebih dari 10 menit dengan cara memanaskan otoklaf sebelumnya. Dinginkan secepat mungkin untuk menghindari pembentukan warna media akibat panas berlebih. Lakukan upaya untuk mempertahankan sterilitas dan pendinginan secara seragam selama penetapan kadar, karena letak tabung yang terlalu berdekatan dalam otoklaf dapat menyebabkan kecepatan pemanasan yang bervariasi.

Secara aseptik tambahkan ke dalam tiap tabung 0,5 ml *Inokulum* kecuali 2 dari 4 tabung yang tidak berisi *Larutan baku* (blangko tidak terinokulasi). Inkubasi tabung pada suhu antara 30° dan 40° pertahankan suhu tetap dalam  $\pm 0,5^\circ$  selama 16 - 24 jam.

Hentikan pertumbuhan dengan cara pemanasan pada suhu tidak kurang dari 80° selama 5 menit. Dinginkan hingga suhu ruang. Goyangkan isinya, dan ukur transmitans dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Pengamatan dilakukan beberapa detik setelah digoyang, bila transmitans tetap selama 30 detik atau lebih. Lakukan pembacaan untuk tiap tabung dalam selang waktu yang hampir sama.

Dengan mengatur transmitans pada 100 untuk blangko tidak terinokulasi, baca transmitans dari blangko terinokulasi. Jika perbedaan lebih besar dari 5% atau jika terkontaminasi dengan jasad renik lain abaikan hasil penetapan.

Dengan mengatur transmitans pada 100% untuk blangko tidak terinokulasi, baca transmitans tiap tabung lain. Abaikan hasil penetapan bila kemiringan kurva baku menunjukkan masalah sensitivitas.

**Perhitungan** Buat kurva baku antara konsentrasi dan respons dengan cara berikut. Periksa dan abaikan tiap transmitans yang menyimpang. Untuk tiap tingkat kadar baku, hitung respons dari jumlah harga duplikasi transmitans ( $\Sigma$ ) sebagai selisih,  $y = 2,00 - \Sigma$ . Buat kurva dengan respons pada ordinat kertas grafik terhadap logaritma volume dalam ml dari *Larutan baku* dalam ml tiap tabung pada absis menggunakan ordinat baik skala aritmetika atau logaritmik, sehingga diperoleh garis mendekati lurus yang lebih baik. Gambar garis lurus atau kurva yang paling mendekati titik yang diperoleh.

Hitung respons  $y$ , dengan menambah bersama dua transmitans untuk tiap kadar *Larutan uji*. Baca dari kurva baku logaritma volume *Larutan baku* yang sesuai untuk tiap harga  $y$  yang terletak dalam rentang titik terendah dan tertinggi dari baku. Kurangkan dari tiap logaritma yang diperoleh dari logaritma volume dalam ml dari *Larutan uji* untuk memperoleh perbedaan,  $x$ , untuk tiap tingkat dosis. Hitung harga rata-rata dari  $x$  untuk tiap 3 atau lebih tingkat dosis untuk memperoleh  $x = M'$ , log potensi relatif dari *Larutan uji*. Hitung jumlah dalam  $\mu\text{g}$ , *Sianokobalamin BPF1* sesuai dengan sianokobalamin dalam sediaan uji dengan persamaan  $\text{antilog } M = \text{antilog } (M' + \log R)$ ,  $R$  adalah jumlah dalam  $\mu\text{g}$  sianokobalamin dalam tiap mg (kapsul atau tablet) yang digunakan.

**Replikasi** Ulangi seluruh penetapan sekurang-kurangnya satu kali menggunakan *Larutan uji* yang dibuat terpisah. Jika perbedaan antara dua log potensi  $M$

tidak lebih dari 0,08, harga rata-rata.  $M$ , adalah log potensial sediaan uji, seperti tertera pada *Penetapan Aktivitas Vitamin B<sub>12</sub>* dalam *Desain dan Analisis Penetapan Hayati* <81>. Jika dua penetapan berbeda lebih dari 0,08, lakukan satu atau lebih penetapan tambahan. dari harga rata-rata dua atau lebih harga  $M$  yang tidak berbeda lebih dari 0,15 hitung potensi rata-rata *Larutan uji*.

## PENETAPAN GOLONGAN DARAH ABO DONOR <101>

Antigen sel darah merah dalam darah dan antibodi dalam serum atau plasma ditentukan dengan cara manual atau otomatis.

Cara manual, ambil beberapa ml darah tanpa anti koagulan dan biarkan menjendal. Buang serum dan suspensikan sel darah merah tersebut hingga kadar 2% - 3% dalam larutan *natrium klorida* P 0,9 % steril.

Cara otomatis, ambil beberapa ml darah, hindari penjendalan dengan menambahkan 1 bagian volume larutan *dikalium edetat* P 10 % untuk tiap 32 bagian volume darah yang diuji. Pisahkan plasma dan komponen sel dan buat suspensi sel darah merah dalam larutan *natrium klorida* P 0,9 % yang sesuai untuk jenis alat yang digunakan.

### Uji Antigen

Buat campuran terpisah suspensi sel darah merah masing-masing dengan *Pereaksi golongan darah anti A*, *Pereaksi golongan darah anti-B* dan *Pereaksi golongan darah anti-A, B (golongan O)*, dengan spesifisitas yang telah ditunjukkan dengan uji menggunakan sel darah merah yang diketahui golongan A, B dan O, dan tentukan antigen yang ada dengan aglutinasi.

**Uji Manual** Campur 1 bagian volume *Perekasi golongan darah ABO* yang sesuai dengan 1 bagian volume suspensi sel darah merah dalam tabung reaksi. Diamkan tabung pada suhu ruang selama 1 - 2 jam dan goyang tabung perlahan-lahan agar endapan terbagi merata. Amati aglutinasi secara makroskopis.

**Uji Otomatis** Lakukan uji dengan peralatan otomatis, sesuai ketentuan pabrik. Campur suspensi sel darah merah dengan *Perekasi golongan darah ABO* yang sesuai. Diamkan agar terbentuk aglutinasi, tentukan tingkat aglutinasi secara visual dengan menampung endapan/aglutinat diatas kertas saring atau dengan detektor fotometrik yang sesuai dilengkapi alat perekam otomatis.

### Uji Antibodi

Buat campuran terpisah serum atau plasma dengan suspensi sel darah merah manusia golongan A (sub golongan A<sub>1</sub> dan A<sub>2</sub>), golongan B dan golongan O dan tentukan antibodi yang ada dengan pola aglutinasi cara manual atau otomatis seperti tertera pada *Uji Antigen*.

Jika cara di atas digunakan untuk menetapkan golongan darah penerima dan bukan untuk pemeriksaan donor, harus diperhatikan bahwa perkembangan antibodi tidak sempurna pada bayi umur kurang dari 1 tahun; dalam hal ini golongan darah pada anak hanya berdasarkan pada antigen yang terdapat dalam sel darah merah.

### Pereaksi Golongan Darah ABO

[Catatan Pereaksi golongan darah ABO pada umumnya dipilih atas dasar kesesuaian penggunaan dalam uji manual.] Jika pereaksi akan digunakan untuk uji otomatis, kesesuaian pereaksi diperkirakan dengan melakukan uji otomatis menggunakan sejumlah besar suspensi sel darah merah golongan ABO yang berbeda termasuk sub golongan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>2</sub>B dan Ax.

*Pereaksi golongan darah ABO* berasal dari serum atau plasma defibrinasi dari donor terpilih yang mempunyai golongan darah ABO yang sengaja diimunisasi dengan sel darah merah atau senyawa spesifik dari golongan darah atau sub golongan darah yang sesuai. Sebagai pengganti dapat berasal dari serum hewan atau biakan limfosit mamalia. Sediaan yang berasal dari darah manusia harus bebas dari antigen permukaan hepatitis B yang diuji dengan metode yang peka.

*Pereaksi golongan darah ABO* dapat berupa cairan atau hasil konstitusi pereaksi kering. Pereaksi cair jernih atau sedikit opalesen, warna kekuningan atau tidak berwarna dan tidak keruh dapat mengandung pengawet antimikroba yang sesuai. Pereaksi kering berupa serbuk warna kuning pucat atau padatan rapuh.

*Pereaksi golongan darah ABO* terdiri dari tiga jenis yaitu, pereaksi golongan darah anti A, pereaksi golongan darah anti B dan pereaksi golongan darah anti A, B (golongan O).

*Pereaksi golongan darah anti-A* mengaglutinasi sel darah merah manusia yang mengandung antigen A, meliputi sub golongan A<sub>1</sub> dan A<sub>2</sub>, tetapi jarang membentuk aglutinasi dengan sel darah merah golongan Ax. Pereaksi ini dapat mengaglutinasi sel darah merah golongan A dan AB meliputi sub golongan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>1</sub>B dan A<sub>2</sub>B tetapi tidak mengaglutinasi sel darah merah sub golongan Ax atau AxB. Pereaksi tidak mengaglutinasi sel darah merah manusia yang tidak mengandung antigen A, yaitu sel darah merah golongan O dan B. Pereaksi tidak menunjukkan aglutinasi dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan untuk tiap kumpulan sel yang lengkap dari golongan darah O dan B yang dipilih mengandung antigen sel darah merah dengan rentang luas atau mengandung antibodi terhadap protein serum faktor Gm atau Km. Pereaksi tidak mengaglutinasi sel darah merah golongan O atau B yang dilapisi IgG.

*Pereaksi golongan darah anti-B* mengaglutinasi sel darah merah manusia yang mengandung antigen B yaitu sel darah merah golongan B dan AB termasuk sub golongan A<sub>1</sub>B dan A<sub>2</sub>B. Pereaksi tidak membentuk aglutinasi dengan sel darah merah yang tidak mengandung antigen B yaitu sel darah merah golongan O dan A termasuk sub golongan A<sub>1</sub> dan A<sub>2</sub>. Pereaksi

tidak membentuk aglutinasi dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan untuk tiap kumpulan sel yang lengkap dari golongan darah O dan A yang dipilih mengandung antigen sel darah merah dengan rentang luas atau mengandung antibodi terhadap protein serum faktor Gm atau Km. Pereaksi tidak mengaglutinasi golongan darah merah O atau A yang dilapisi IgG.

*Pereaksi golongan darah anti-A, B (golongan O)* mengaglutinasi sel darah merah manusia yang mengandung antigen A atau B, yaitu mengaglutinasi sel darah merah golongan A, B dan AB termasuk sub golongan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, Ax, A<sub>1</sub>B, A<sub>2</sub>B dan Ax B. Pereaksi tidak mengaglutinasi sel darah merah manusia yang tidak mengandung antigen A atau B yaitu sel darah merah golongan O. Pereaksi tidak menunjukkan aglutinasi dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan untuk tiap kumpulan sel yang lengkap dari golongan darah O yang dipilih mengandung antigen dalam sel darah merah atau yang mengandung antibodi terhadap protein serum faktor Gm atau Km. Pereaksi tidak mengaglutinasi sel darah merah golongan O yang dilapisi IgG.

**Baku pembanding Serum Golongan Darah Anti-A Manusia BPF1; Serum Golongan Darah Anti-B Manusia BPF1; Serum Golongan Darah Anti A, B Manusia BPF1.**

*Pereaksi golongan darah ABO* bila perlu direkonstitusi seperti tertera pada etiket, memenuhi syarat sebagai berikut:

**AVIDITAS** Pada kaca obyek, campur sejumlah volume sediaan uji dengan volume sama suspensi 5% - 10%. Suspensi sel darah merah dari masing-masing golongan atau sub golongan; gunakan secara terpisah untuk masing-masing tipe sel darah. Waktu yang diperlukan hingga aglutinasi yang timbul pertama (bila dilihat dengan mata telanjang) tidak lebih dari 2 kali dari waktu yang diperlukan bila digunakan *Serum golongan darah BPF1* yang sesuai.

*Pereaksi golongan darah anti A* Gunakan sel darah merah manusia dari sub golongan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>B dan bila perlu sub golongan A<sub>2</sub> dan A<sub>1</sub>B, baku yang sesuai yaitu *Serum Golongan Darah Anti A Manusia BPF1*.

*Pereaksi golongan darah anti B* Gunakan sel darah merah manusia dari sub golongan B, baku yang sesuai yaitu *Serum Golongan Darah Anti B Manusia BPF1*.

*Pereaksi golongan darah anti A, B (Golongan O)* Gunakan sel darah merah manusia dari sub golongan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> dan golongan B, baku yang sesuai yaitu *Serum Golongan Darah Anti A, B Manusia BPF1*.

Lakukan prosedur yang tertera di atas pada suhu 20° - 25° menggunakan sel darah merah sub golongan Ax; aglutinasi pertama yang timbul terlihat dengan mata telanjang tidak lebih dari 2 menit.

**POTENSI** Potensi pereaksi golongan darah ABO ditetapkan dengan membandingkan aktivitas antibodi aglutinin salin dengan *Serum Golongan Darah BPF1* atau dengan baku lain yang potensinya telah dibakukan dengan baku BPF1 yang sesuai.

Lakukan titrasi pereaksi uji dan sediaan baku secara bersamaan terhadap suspensi sel darah merah manusia dari golongan atau sub golongan di bawah ini.

**Pereaksi golongan darah Anti-A** Tidak kurang dari 64 unit antibodi anti-A per ml; untuk tiap tipe sel darah merah terhadap yang dititrasi, titer pereaksi uji tidak kurang dari seperempat dari titer *Serum golongan darah anti-A manusia BPF1* yang telah direkonstitusi.

Gunakan sel darah merah sub golongan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>B dan sebaiknya menggunakan juga sub golongan A<sub>2</sub> dan A<sub>1</sub>B.

**Pereaksi golongan darah Anti-B** Tidak kurang dari 64 unit antibodi anti-B per ml; titer pereaksi uji tidak kurang dari seperempat titer *Serum Golongan Darah anti-B manusia BPF1* yang telah direkonstitusi. Gunakan sel darah merah manusia golongan B.

**Pereaksi golongan darah Anti-A, B (golongan O)** Tidak kurang dari 64 unit antibodi anti-A dan antibodi anti-B per ml; titer pereaksi uji tidak kurang dari seperempat titer *Serum golongan darah anti-A, B manusia BPF1* yang telah direkonstitusi.

Gunakan sel darah merah manusia sub golongan A<sub>1</sub> dan A<sub>2</sub> dan golongan B.

Pereaksi golongan darah anti-A, B yang tidak diencerkan memberikan aglutinasi yang mudah dideteksi dengan sekurang-kurangnya satu contoh sel darah merah sub golongan Ax.

**Sterilitas <71>** Memenuhi syarat.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah steril tertutup kedap. **Pereaksi golongan darah ABO** cair yang mengandung pengawet antimikroba, simpan dalam keadaan beku, sebaiknya pada suhu di bawah -30°.

**Pereaksi golongan darah ABO** cair yang mengandung pengawet antimikroba, simpan pada suhu 2° hingga 8°; hindari pembekuan kecuali pengawet antimikroba tersebut tidak merusak sediaan dalam keadaan beku.

Pereaksi golongan darah ABO kering disimpan pada suhu tidak lebih dari 20°.

## **PENETAPAN GOLONGAN Rh DONOR <111>**

Antigen sel darah merah dalam darah dapat ditentukan dengan cara manual atau otomatis. Mengingat antibodi sistem Rh hanya ditemukan dalam darah manusia, yang telah diimunisasi dengan sel darah merah manusia yang mengandung antigen Rh, dengan sengaja atau tidak sengaja, maka dalam penetapan golongan Rh donor adalah penting hanya bergantung pada reaksi sel darah merah.

Untuk uji manual atau otomatis buat suspensi sel darah merah manusia seperti tertera pada *Penetapan Golongan Darah ABO Donor <101>*, untuk uji manual gunakan suspensi darah yang sesuai yang telah dicegah dari penjudalan dengan penambahan anti koagulan yang sesuai.

[Catatan Bila dilakukan uji anti globulin tidak langsung buat suspensi sel darah merah 10%.]

**Uji Antigen D** Campur suspensi sel darah merah dengan *IgM, Pereaksi golongan darah anti-D* atau dengan *IgG, Pereaksi golongan darah anti-D*, dengan spesifisitas yang telah ditunjukkan pada uji sel darah

merah positif-D (sebaiknya genotipe R<sub>1</sub>r) dan sel darah merah negatif-D dan tentukan antigen anti-D jika dengan cara aglutinasi. Jika digunakan pereaksi *IgG*, perlu dilakukan peningkatan aglutinasi dengan penambahan enzim proteolitik yang sesuai atau albumin serum sapi atau dengan uji sel darah merah yang telah disensitisasi dengan pereaksi antiglobulin.

**Uji manual** Gunakan satu dari beberapa cara berikut. Fenotipe D<sup>u</sup> jarang terdeteksi dengan menggunakan *IgM pereaksi golongan darah anti D*; maka gunakan *IgG pereaksi golongan darah anti D*, sebaiknya sesuai dengan metode (i) atau (iii) berikut:

Menggunakan *IgM, pereaksi golongan darah anti-D* Campur 1 bagian volume pereaksi dengan 1 bagian volume suspensi sel darah merah dalam tabung reaksi. Inkubasi tabung pada suhu 37° selama 1 - 2 jam dan ketuk perlahan-lahan hingga endapan sel terdispersi. Amati aglutinasi dalam tabung secara makroskopik.

Menggunakan *IgG, pereaksi golongan darah anti D*.

i. Campur 1 bagian volume pereaksi dengan 1 bagian volume suspensi sel darah merah dalam tabung reaksi dan tambahkan sejumlah volume suspensi sediaan papain teraktivasi yang sesuai 0,5% pada pH 5,4. Inkubasi tabung pada suhu 37° selama 30 menit dan ketuk perlahan-lahan hingga endapan sel tersebar merata. Amati aglutinasi dalam tabung secara makroskopik.

ii. Campur 1 bagian volume pereaksi dengan 1 bagian volume suspensi sel darah merah dalam tabung reaksi. Inkubasi tabung pada suhu 37° selama 1 jam, kemudian tambahkan 1 bagian volume larutan *albumin serum sapi P 30%* untuk menggantikan beningan yang kontak dengan endapan sel darah merah, dan jaga agar endapan sel darah merah tidak terganggu. Inkubasi kembali tabung pada suhu 37° selama 30 menit dan tutup perlahan-lahan hingga endapan sel terdispersi. Amati aglutinasi dalam tabung secara makroskopik.

iii. Lakukan uji antiglobulin tidak langsung dengan membuat suspensi sel darah merah 10% dalam larutan *natrium klorida P 0,9%* sebagai berikut. Tambahkan 4 bagian volume pereaksi ke dalam 2 bagian volume suspensi sel darah merah. Inkubasi tabung pada suhu 37° selama 45 menit. Buat kontrol positif menggunakan sel darah merah positif-D yang diketahui (sebaiknya genotipe R<sub>1</sub>r) dan buat kontrol negatif menggunakan sel negatif-D yang diketahui. Setelah inkubasi, cuci sel uji dan sel kontrol 4 kali dengan larutan *natrium klorida P 0,9%*, tiap kali buang cairan beningan sesempurna mungkin. Suspensikan kembali sel dalam larutan *natrium klorida P 0,9%* hingga diperoleh suspensi padatan darah lebih kurang 10%. Campur 1 tetes suspensi ini dengan volume sama pereaksi anti *IgG* manusia yang sesuai dengan pengenceran yang sesuai pada pelat tetes. Goyang pelat tetes perlahan-lahan, amati reaksi positif berupa aglutinasi yang timbul setelah 5 menit (setelah waktu tersebut, besar kemungkinan terbentuk aglutinasi tidak khas). Dengan cara lain, cuci sel uji dan sel kontrol dengan larutan *natrium klorida P 0,9%* secara manual atau dengan alat mekanik otomatis, dan kemudian tambahkan sejumlah volume yang sesuai



pereaksi anti IgG manusia dengan pengenceran yang sesuai. Setelah disentrifus amati aglutinasi berupa endapan sel darah merah.

**Uji otomatis** Lakukan dengan cara seperti tertera pada *Penetapan Golongan Darah ABO Donor <101>*, menggunakan *Pereaksi golongan darah Rh* yang sesuai sebagai pengganti pereaksi golongan darah ABO.

**Uji Antigen C dan E** Darah donor yang diuji dengan cara di atas menunjukkan negatif-D, harus diuji lagi terhadap antigen C dan E. Hanya darah donor yang negatif terhadap ketiga antigen dianggap sebagai negatif Rh (rr). Uji terhadap antigen C dan E dilakukan seperti pada *Uji Antigen-D* menggunakan pereaksi golongan darah Rh anti-C atau anti-E yang sesuai. Dalam sistem otomatis, contoh darah biasanya diuji terhadap ketiga antigen secara simultan.

**Pereaksi golongan darah Rh** Pereaksi golongan darah Rh dipilih atas dasar kesesuaian penggunaan dalam uji manual. Jika pereaksi tersebut akan digunakan dalam uji otomatis, kesesuaian pereaksi harus dikaji dengan melakukan uji otomatis menggunakan sejumlah besar suspensi sel darah merah yang mencakup fenotipe Rh dari berbagai variasi.

Pereaksi golongan darah anti-D, pereaksi golongan darah anti-D, IgM, mudah digunakan tapi tidak selalu terpercaya. Pereaksi golongan darah anti-D, IgG, lebih banyak tersedia dan lebih umum digunakan.

Pereaksi golongan darah Rh dibuat dari sera atau plasma didefibrinasi dari satu orang atau lebih yang diimunisasi dengan antigen yang sesuai dari sistem Rh atau dari biakan limfosit mamalia. Hanya bahan yang telah diuji negatif terhadap *antigen permukaan Hepatitis B* dengan metode peka dapat digunakan. Pereaksi golongan darah Rh dapat berupa cairan atau hasil rekonstitusi pereaksi kering.

Pereaksi cair jernih atau sedikit opalesen, kekuningan atau cairan tidak berwarna tanpa kekeruhan, dapat mengandung bahan pengawet antimikroba yang sesuai. Pereaksi kering berupa serbuk kuning pucat atau padatan rapuh.

Pereaksi golongan darah Rh terdiri dari 4 tipe, yaitu pereaksi golongan darah anti-D, IgM; pereaksi golongan darah anti-D, IgG; pereaksi golongan darah Anti-C; dan pereaksi golongan darah anti-E.

Pereaksi golongan darah anti-D, IgM, mengaglutinasi suspensi sel positif-D dalam larutan *natrium klorida P 0,9%*. Pereaksi harus tidak menunjukkan aglutinasi dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan untuk tiap kumpulan sel yang lengkap yang tidak mengandung antigen D dan yang dipilih sebagai antigen sel darah merah dengan rentang luas.

Pereaksi golongan darah anti-D, IgG, mengaglutinasi sel darah merah manusia positif-D dalam larutan *albumin serum sapi P 20% - 30%*. Pereaksi ini juga melapisi suspensi sel darah merah manusia positif-D dalam larutan *natrium klorida P 0,9%* hingga sel ini kemungkinan dapat diaglutinasi dengan pereaksi antiglobulin anti-IgG. Dengan modifikasi kimia IgG, pereaksi golongan darah anti-B, IgG, dapat mengaglutinasi suspensi sel darah merah manusia

positif-D dalam larutan *natrium klorida-P 0,9%*. Pereaksi harus tidak menunjukkan aglutinasi atau melapisi, dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan, untuk tiap kumpulan sel yang lengkap yang tidak mengandung antigen D dan yang dipilih sebagai antigen sel darah merah dengan rentang luas.

Pereaksi golongan darah anti-C mengandung terutama IgM, atau IgG, antibodi anti-C. Lakukan uji yang sesuai terhadap kelas imunologis antibodi yang ada (masing-masing seperti tertera pada pereaksi golongan darah anti-D, IgM, dan pereaksi golongan darah anti-D, IgG).

Untuk mendeteksi antigen C dalam donor negatif D; anti C, D (yaitu anti-G) dapat digunakan. Aktivitas anti-C harus dapat bereaksi dengan antigen C<sup>w</sup> jika dalam kombinasi, C<sup>w</sup>/c. Anti-G yang bereaksi dengan antigen C atau D, atau kedua antigen C dan D, jika ada tidak mempengaruhi sediaan yang negatif-DE. Dengan cara lain pereaksi anti-C dapat digunakan, dibuat dari donor negatif-C, positif-D, E.

Anti-C harus dapat mendeteksi antigen C<sup>w</sup> jika dalam kombinasi C<sup>w</sup>/c, dan dapat mendeteksi C dalam posisi *sis* dengan e dan E (Ce, CE). Pereaksi ini kurang dapat bereaksi dengan kompleks CE (CDE, CdE). Pereaksi golongan darah Anti-C tidak boleh menunjukkan aglutinasi, dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan, untuk tiap kumpulan sel yang lengkap yang tidak mengandung antigen C atau C<sup>w</sup> (atau antigen D dalam anti-G) yang dipilih sebagai antigen sel darah merah dengan rentang luas meliputi A, B dan E.

Pereaksi golongan darah anti-E dapat mengandung terutama IgM atau IgG, antibodi anti-E dan lakukan uji yang sesuai terhadap kelas imunologis antibodi yang ada (masing-masing seperti tertera pada pereaksi golongan darah anti-D, IgM, dan pereaksi golongan darah anti-D, IgM, dan pereaksi golongan darah anti-D, IgG).

Banyak contoh pereaksi anti-E mengandung sejumlah anti-cE, antibodi Rh yang mengaglutinasi hanya sel darah merah manusia dengan antigen c dan E dinyatakan dengan gen c dan E yang terdapat dalam kompleks gen Rh yang sama, yaitu posisi *cis*, dan yang tidak mengaglutinasi sel yang mengandung antigen E yang dinyatakan dari kompleks gen seperti CDE dan CdE yang tidak mengandung e. Pereaksi golongan darah anti-E harus menunjukkan aglutinasi terhadap sel darah merah harus yang mengandung antigen E yang tidak menunjukkan kompleks gen yang juga mengandung e. Pereaksi tidak boleh menunjukkan aglutinasi, dalam kondisi seperti tertera pada penggunaan, tiap kumpulan sel yang lengkap yang dipilih sebagai antigen sel darah merah dengan rentang luas. Kemungkinan lain dapat digunakan pereaksi anti-D, E.

Pereaksi golongan darah Rh, jika perlu direkonstitusi seperti tertera pada etiket, memenuhi persyaratan berikut.

#### POTENSI

*Pereaksi golongan darah anti-D, IgM* Mengandung anti-D sebagai *aglutinin salin* dalam jumlah yang memberikan reaksi positif pada pengenceran 1 dalam 32

terhadap sel darah merah yang diketahui mengandung antigen D.

*Pereaksi golongan darah anti-D, IgG* Potensi pereaksi golongan darah anti-D, IgG, ditetapkan dengan membandingkan aktivitas antibodi *aglutinin albumin* dengan *Serum Golongan Darah BPF1* yang sesuai atau dengan baku lain yang sesuai yang telah dibakukan terhadap *Serum Golongan Darah BPF1*.

Lakukan penetapan titrasi pereaksi uji bersama dengan sediaan baku terhadap suspensi sel darah manusia yang mengandung antigen D.

Pereaksi golongan darah anti-D, IgG, mengandung tidak kurang dari 32 unit antibodi anti-D per ml, titer pereaksi yang diuji tidak kurang dari setengah dari titer *Serum Golongan Darah Tidak Lengkap Anti-Rh<sub>0</sub> (anti-D) Manusia BPF1* (mengandung 32 unit).

*Pereaksi golongan darah anti-C* Mengandung antibodi anti-C dalam jumlah tertentu yang dapat memberikan reaksi positif terhadap sel darah merah yang diketahui mengandung antigen C pada pengenceran 1 dalam 8.

*Pereaksi golongan darah anti-E* Mengandung antibodi anti-E dalam jumlah tertentu yang dapat memberikan reaksi positif terhadap sel darah merah yang diketahui mengandung antigen E pada pengenceran 1 dalam 8.

**Sterilitas** <71> Memenuhi syarat.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah steril tertutup kedap.

Sediaan dalam bentuk cair yang tidak mengandung pengawet antimikroba disimpan dalam keadaan beku sebaiknya pada suhu di bawah -30°.

Sediaan bentuk cair yang mengandung pengawet antimikroba disimpan pada suhu 2° hingga 8°, hindari pembekuan kecuali bila pengawet tersebut tidak merusak pereaksi dalam keadaan beku.

Sediaan kering disimpan pada suhu tidak lebih dari 20°.

## **PENETAPAN KADAR KALSIUM PANTOTENAT <121>**

**Baku Pembanding Kalsium Pantotenat BPF1;** lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Larutan baku persediaan** Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Kalsium Pantotenat BPF1* yang telah dikeringkan dan disimpan di tempat gelap, diatas *fosfor pentoksida P*, hindari penyerapan uap air selama penimbangan. Larutkan dengan lebih kurang 500 ml air dalam labu tentukur 1000-ml. Tambahkan 10 ml asam asetat 0,2 N dan 100 ml larutan *natrium asetat P* (1 dalam 60), encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan setara dengan 50 µg *Kalsium Pantotenat BPF1*. Simpan di bawah lapisan *toluen P* dalam lemari pendingin.

**Larutan baku** Pada hari pengujian, encerkan sejumlah *Larutan baku persediaan* yang diukur saksama dengan air hingga kadar antara 0,01 µg dan 0,04 µg kalsium pantotenat per ml, gunakan kadar yang tepat hingga respons yang diperoleh seperti tertera pada *Prosedur*, 2,0 ml dan 4,0 ml *Larutan baku* yang digunakan, berada dalam garis lurus kurva respons log-kadar.

**Larutan uji** Buat larutan seperti tertera pada masing-masing monografi dengan kadar setara kalsium pantotenat dalam *Larutan baku*.

### **Larutan persediaan media basal**

Larutan kasein terhidrolisa asam	25 ml
Larutan Sistin Triptofan	25 ml
Larutan polisorbit 80	0,25 ml
Dekstrosa anhidrat	10 g
Natrium asetat anhidrat	5 g
Larutan Adenin-Guanin-Urasil	5 ml
Larutan Riboflavin-Tiamin Hidroklorida	
-Biotin	5 ml
Larutan asam para-aminobenzoat-Niasin	
-Piridoksin Hidroklorida	5 ml
Larutan garam A	5 ml
Larutan garam B	5 ml

Larutkan dekstrosa anhidrat dan natrium asetat dalam larutan yang dicampur terdahulu, atur pH 6,8 dengan penambahan natrium hidroksida 1 N, encerkan dengan air hingga 250 ml.

**Larutan kasein terhidrolisis asam** Campur 100 g *kasein P* bebas vitamin dengan 500 ml *asam klorida 6 N* dan refluks campuran selama 8 - 12 jam. Hilangkan asam klorida dalam campuran dengan penyulingan pada tekanan rendah hingga sisa berbentuk pasta kental. Larutkan kembali pasta yang terbentuk dengan air, atur pH 3,5±0,1 dengan *natrium hidroksida 1 N* dan tambahkan air hingga 1000 ml. Tambahkan 20 g *arang aktif P*, aduk selama 1 jam dan saring. Ulangi perlakuan dengan arang aktif. Simpan di bawah *toluen P* dalam lemari pendingin pada suhu tidak kurang dari 10°. Saring larutan jika pada waktu penyimpanan terbentuk endapan.

**Larutan sistin-triptofan** Suspensikan 4,0 g *L-sistin P* dan 1,0 g *L-triptofan P* (atau 2,0 g *D,L-triptofan*) dalam 700 - 800 ml air, panaskan pada suhu 70° hingga 80° dan tambahkan larutan *asam klorida P* (1 dalam 2) tetes demi tetes dengan pengadukan sampai padatan larut. Simpan di bawah *toluen P* dalam lemari pendingin pada suhu tidak kurang dari 10°.

**Larutan adenin-guanin-urasil** Larutkan dengan pemanasan *adenin sulfat P*, *guanin hidroklorida P* dan *urasil P* masing-masing 200 mg dalam 10 ml asam klorida 4 N, dinginkan dan tambahkan air hingga 200 ml. Simpan di bawah lapisan *toluen* dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorb 80** Larutkan 25 g polisorb 80 P dalam etanol P hingga 250 ml.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin** Buat larutan dalam asam asetat 0,02 N hingga tiap ml mengandung masing-masing 20 µg riboflavin P, 10 µg tiamin hidroklorida P dan 0,04 µg biotin P. Simpan di bawah lapisan toluen dalam lemari pendingin.

**Larutan asam para aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida** Buat larutan dalam etanol P 25% netral hingga tiap ml mengandung 10 µg asam p-aminobenzoat P, 50 µg niasin P dan 40 µg piridoksin hidroklorida P. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam A** Larutkan 25 g kalium fosfat monobasa P dan 25 g kalium fosfat dibasa P dalam air hingga 500 ml. Tambahkan 5 tetes asam klorida P, simpan di bawah lapisan toluen.

**Larutan garam B** Larutkan 10 g magnesium sulfat P dan 500 mg natrium klorida P, 500 mg besi(II) sulfat P dan 500 mg mangan sulfat P dalam air hingga 500 ml. Tambahkan 5 tetes asam klorida P, simpan di bawah lapisan toluen.

**Biakan persediaan lactobacillus plantarum** Larutkan 2,0 g ekstrak ragi P larut air dalam 100 ml air, tambahkan 500 mg dekstrosa anhidrat P, 500 mg natrium asetat anhidrat P dan 1,5 g agar P, panaskan capuran di atas tangas uap sambil diaduk hingga agar terlarut. Tuang masing-masing lebih kurang 10 ml larutan agar panas ke dalam tabung reaksi, tutup tabung, sterilkan pada suhu 121°, biarkan tabung mendingin dalam posisi tegak. Buat biakan dari biakan murni *Lactobacillus plantarum* dengan tusukan pada tiga atau lebih tabung reaksi. Inkubasi selama 16 - 24 jam pada suhu antara 30° dan 37 ° ±0,5° kemudian simpan dalam lemari pendingin. Buat biakan segar dari biakan persediaan setiap minggu dan tidak boleh digunakan sebagai inokulum bila umur biakan lebih dari 1 minggu.

**Media biakan** Pada tiap seri tabung berisi 5,0 ml *Larutan persediaan media basal* tambahkan 5,0 ml air yang mengandung 0,2 µg kalsium pantotenat. Sumbat tabung dengan kapas, sterilkan dengan otoklaf pada suhu 121° dan dinginkan.

**Inokula** Pindahkan sel dari *Biakan persediaan lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril berisi 10 ml *Media biakan*. Inkubasi biakan selama 16 hingga 24 jam pada suhu yang dipilih antara 30° dan 37°±0,5°. Suspensi sel yang diperoleh adalah *Inokula*.

**Prosedur** Pada dua seri tabung reaksi ukuran sama masukkan 1,0 ml dan/atau 1,5 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml dan 5,0 ml *Larutan baku*. Pada tiap tabung dan 4 tabung sejenis yang tidak berisi *Larutan baku* tambahkan 5,0 ml *Larutan persediaan media basal* dan air secukupnya hingga 10 ml. Pada dua seri tabung reaksi sejenis

masukkan sejumlah *Larutan uji* setara dengan 3 atau lebih tingkat kadar *Larutan baku* meliputi tingkat 2,0 ml; 3,0 ml dan 4,0 ml. Pada masing-masing tabung tambahkan 5,0 ml *Larutan persediaan media basal* dan air secukupnya hingga 10 ml. Tempatkan dua seri tabung *Larutan baku* dan *Larutan baku* bersama-sama dalam rak tabung dan sebaiknya tempatkan tabung secara acak.

Tutup tabung untuk mencegah kontaminasi jasad renik dan panaskan dalam otoklaf pada suhu 121° selama 5 menit. Dinginkan dan tambahkan 1 tetes inokula pada tiap tabung kecuali 2 dari 4 tabung yang tidak berisi *Larutan baku* (sebagai blangko yang tidak diinokulasi) dan campur. Inokulasi tabung pada suhu antara 30° dan 37° ± 0,5° selama 16 - 24 jam, sampai tidak terbentuk penambahan kekeruhan pada tabung yang mengandung baku kadar tertinggi dalam waktu 2 jam.

Tentukan transmitans tabung dengan cara sebagai berikut: Campur isi tiap tabung, ukur transmitans pada panjang gelombang antara 540 nm dan 660 nm, setelah tercapai keadaan stabil. Keadaan stabil dicapai beberapa detik setelah dikocok, bila pembacaan transmitans stabil selama 30 detik atau lebih. Gunakan interval waktu yang relatif sama untuk setiap pembacaan tabung.

Atur transmitans 1,00 menggunakan blangko yang tidak diinokulasi, ukur transmitans blangko terinokulasi. Dengan transmitans 1,00 untuk blangko terinokulasi, ukur transmitans tabung-tabung lain. Jika terjadi kontaminasi dengan jasad renik asing, ulangi pengujian.

**Perhitungan** Buat kurva baku antar kadar dan respons dengan cara sebagai berikut: Untuk tiap tingkat kadar *Larutan baku*, hitung respons dari jumlah harga duplikasi transmitans ( $\Sigma$ ) sebagai selisih,  $Y = 2,00 - \Sigma$ (dari transmitans). Gambarkan kurva dengan respons pada ordinat kertas grafik terhadap log dari volume *Larutan baku* dalam ml tiap tabung pada absis, untuk ordinat menggunakan skala aritmetika atau logaritmik sehingga diperoleh mendekati garis lurus. Gambar garis lurus atau kurva yang paling sesuai dengan titik yang diperoleh.

Hitung respons  $y$  dengan menambah bersama dua transmitans untuk tiap kadar *Larutan uji*. Baca dari kurva baku logaritma volume *Larutan baku* yang sesuai untuk tiap harga  $y$  yang terletak pada rentang titik terendah dan tertinggi dari baku. Kurangkan dari tiap logaritma yang diperoleh, logaritma dari volume dalam ml *Larutan uji* untuk memperoleh perbedaan,  $x$ , untuk tiap tingkat dosis. Harga rata-rata  $x$  untuk masing-masing tiga atau lebih tingkat dosis untuk memperoleh  $x = M'$ , log-potensi relatif *Larutan uji*. Hitung jumlah dalam mg Kalsium Pantotenat BPF1 yang sesuai dengan kalsium pantotenat dalam sejumlah bahan yang digunakan untuk pengujian sebagai antilog:

$$M = \text{antilog}(M' + \log R)$$

$R$  adalah jumlah mg kalsium pantotenat yang diperkirakan ada dalam tiap mg (kapsul atau tablet) yang digunakan untuk pengujian.

**Pengulangan** Ulangi seluruh penetapan sekurang-kurangnya satu kali, dengan *Larutan uji* yang dibuat terpisah. Jika perbedaan antara dua log-potensi *M* tidak lebih dari 0,08, harga rata-rata *M* adalah log-potensi sediaan uji seperti tertera pada *Rentang dan batas keyakinan dari potensi* dalam *Desain analisis Penetapan Hayati* <81>. Jika dua penetapan berbeda lebih dari 0,008 lakukan satu atau lebih penetapan tambahan. Dari harga rata-rata dua atau lebih harga *M* yang tidak berbeda lebih dari 0,15, hitung potensi rata-rata *Larutan uji*.

## **PENETAPAN POTENSI ANTIBIOTIK SECARA MIKROBIOLOGI <131>**

Aktivitas (potensi) antibiotik dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan efek daya hambatnya terhadap mikroba. Penurunan aktivitas antimikroba tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi atau biologi merupakan standar dalam penetapan penurunan aktivitas anti mikroba. Bab ini mencakup cara kerja penetapan antibiotik yang tercantum dalam Farmakope ini, dengan pengujian secara mikrobiologi.

Ada dua metode umum yang dapat digunakan, yaitu penetapan dengan lempeng-silinder atau "cawan" dan penetapan dengan cara "tabung" atau turbidimetri. Metode pertama berdasarkan difusi antibiotik dari silinder yang dipasang tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan Petri atau cawan, sehingga mikroba yang ditambahkan dihambat pertumbuhannya pada daerah berupa lingkaran atau "zona" di sekeliling silinder yang berisi larutan antibiotik. Metode turbidimetri berdasarkan atas hambatan pertumbuhan biakan mikroba dalam larutan serba sama antibiotik, dalam media cair yang dapat menumbuhkan mikroba dengan cepat bila tidak terdapat antibiotik.

### **PERALATAN**

Semua peralatan harus dicuci bersih sebelum dan sesudah digunakan. Peralatan gelas untuk menyimpan dan memindahkan mikroba uji, disterilkan dengan pemanasan kering atau dengan uap air.

### **Pengendalian Suhu**

Pengendalian termostatik diperlukan dalam beberapa tahap penetapan secara mikrobiologi, waktu membiakkan mikroba dan penyiapan inokulanya, selama inkubasi dalam penetapan pada cawan dan tabung. Suhu pada penetapan dengan cara cawan dipertahankan pada lebih kurang 0,5° dari suhu yang dipilih. Pengendalian suhu yang lebih dekat (lebih kurang 0,1° dari suhu yang dipilih) sangat penting untuk inkubasi pada penetapan dengan cara tabung, hal ini dapat diperoleh dengan sirkulasi udara atau air, kapasitas panas dari air yang

lebih besar lebih menguntungkan daripada sirkulasi udara.

### **Spektrofotometer**

Pengukuran transmitans dalam pita frekuensi yang sempit, membutuhkan spektrofotometer yang sesuai dan mempunyai sumber cahaya panjang gelombang yang dapat diubah atau dibatasi menggunakan filter 580 nm untuk penyiapan inokula dengan kerapatan tertentu, atau dengan filter 530 nm untuk pengukuran serapan pada pengujian dengan cara tabung. Untuk tujuan yang disebut terakhir, alat dapat diatur hingga dapat menerima tabung yang digunakan untuk inkubasi (lihat *Wadah untuk Penetapan Secara Turbidimetri*) dan menggunakan sel yang dimodifikasi yang dilengkapi dengan pipa pembuangan untuk memudahkan pertukaran isi dengan cepat, atau lebih disukai sel yang mempunyai saluran untuk pengaliran secara sinambung selama pengukuran. Atur serapan dengan blangko untuk serapan nol menggunakan media cair yang jernih tanpa inokula yang disiapkan seperti dinyatakan untuk masing-masing antibiotik, termasuk sejumlah yang sama larutan uji dan formaldehida dalam tiap sampel. [*Catatan Pengukuran serapan atau tranmitans dapat digunakan untuk penyiapan inokula.*]

### **Wadah untuk Penetapan secara Lempeng-Silinder**

Untuk penetapan cara lempeng, gunakan cawan Petri kaca atau plastik (lebih kurang 100 mm x 20 mm) yang mempunyai tutup dari bahan yang sesuai. Untuk silinder, gunakan silinder besi tahan karat atau porselen dengan toleransi ukuran masing-masing lebih kurang 0,1 mm: diameter luar 8 mm, diameter dalam 6 mm, dan tinggi 10 mm. Cuci silinder dengan saksama untuk membersihkan semua residu, kadang-kadang diperlukan suatu asam seperti *asam nitrat 2 N* atau asam kromat seperti tertera pada *Pencucian Peralatan Kaca* <1331>.

### **Wadah untuk Penetapan secara Turbidimetri**

Untuk penetapan dengan cara tabung, gunakan tabung reaksi kaca atau plastik dengan ukuran misalnya 125 x 16 mm atau 150 x 18 mm yang panjang, diameter dan ketebalannya relatif seragam serta permukaannya tidak cacat dan tidak tergores. Tabung yang akan ditempatkan pada spektrofotometer harus yang sesuai, tanpa goresan dan tidak cacat. Bersihkan saksama tabung dari semua residu antibiotik dan sisa larutan pembersih, dan sterilkan sebelum digunakan untuk penetapan berikutnya.

## **MEDIA DAN PENGECER**

### **Media**

Media yang diperlukan untuk penyiapan inokula mikroba uji dibuat dari bahan-bahan yang tertera di bawah ini. Sedikit modifikasi dari masing-masing bahan, atau media kering yang direkonstitusi, dapat dilakukan dengan syarat media yang dihasilkan mempunyai daya

menumbuhkan yang sama atau lebih baik dan memberikan respons kurva baku yang sama.

Larutkan bahan-bahan dalam air hingga 1 liter, dan atur pH larutan menggunakan *natrium hidroksida 1 N* atau *asam klorida 1 N*, hingga sesudah sterilisasi uap air pH media sesuai dengan yang tertera.

MEDIA 1

<i>Pepton P</i>	6,0 g
<i>Digesti pankreatik kasein</i>	4,0 g
<i>Ekstrak ragi P</i>	3,0 g
<i>Ekstrak daging P</i>	1,0 g
<i>Dekstrosa P</i>	1,0 g
<i>Air</i>	15,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 6,6±0,1

MEDIA 2

<i>Pepton P</i>	6,0 g
<i>Ekstrak ragi P</i>	3,0 g
<i>Ekstrak daging P</i>	1,5 g
<i>Agar P</i>	15,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 6,6±0,1

MEDIA 3

<i>Pepton P</i>	5,0 g
<i>Ekstrak ragi P</i>	1,5 g
<i>Ekstrak daging P</i>	1,5 g
<i>Natrium klorida P</i>	3,5 g
<i>Dekstrosa P</i>	1,0 g
<i>Kalium fosfat dibasa P</i>	3,68 g
<i>Kalium fosfat monobasa P</i>	1,32 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 7,0±0,05

MEDIA 4

Sama seperti *Media 2*, kecuali tambahkan 1,0 g *Dekstrosa P*.

MEDIA 5

Sama seperti *Media 2*, kecuali pH setelah sterilisasi 7,9 ±0,1.

MEDIA 8

Sama seperti *Media 2*, kecuali pH setelah sterilisasi 5,9 ±0,1.

MEDIA 9

<i>Digesti pankreatik kasein P</i>	17,0 g
<i>Digesti papaik kedele P</i>	3,0 g
<i>Natrium klorida P</i>	5,0 g
<i>Kalium fosfat dibasa P</i>	2,5 g

<i>Dekstrosa P</i>	2,5 g
<i>Agar P</i>	20,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 7,2 ± 0,1

MEDIA 10

Sama seperti *Media 9*, kecuali menggunakan *agar P* 12,0 g sebagai ganti 20,0 g, dan setelah pendidihan media untuk melarutkan agar, tambahkan 10 ml *polisorbat 80 P*. pH setelah sterilisasi 7,2±0,1.

MEDIA 11

Sama seperti *Media 1* kecuali pH setelah sterilisasi 8,3±0,1.

MEDIA 13

<i>Dekstrosa P</i>	20,0 g
<i>Pepton P</i>	10,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 5,6±0,1

MEDIA 19

<i>Pepton P</i>	9,4 g
<i>Ekstrak ragi P</i>	4,7 g
<i>Ekstrak daging P</i>	2,4 g
<i>Natrium klorida P</i>	10,0 g
<i>Dekstrosa P</i>	10,0 g
<i>Agar P</i>	23,5 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 6,1±0,1

MEDIA 32

Sama seperti *Media 1* kecuali tambahkan 300 mg *mangan sulfat P*.

MEDIA 34

<i>Gliserin P</i>	10,0 g
<i>Pepton P</i>	10,0 g
<i>Ekstrak daging P</i>	10,0 g
<i>Natrium klorida P</i>	3,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 7,0±0,1

MEDIA 35

Sama seperti *Media 3*, kecuali tambahkan 17,0 g *agar P*.

MEDIA 36

<i>Digesti pankreatik kasein P</i>	15,0 g
<i>Digesti papaik kedele P</i>	5,0 g
<i>Natrium klorida P</i>	5,0 g
<i>Agar P</i>	15,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi 7,3 ± 0,1

MEDIA 39

Sama seperti *Media 3*, kecuali pH setelah sterilisasi  $7,9 \pm 0,1$ .

MEDIA 40

<i>Ekstrak ragi P</i>	20,0 g
<i>Polipepton P</i>	5,0 g
<i>Dekstrosa P</i>	10,0 g
<i>Kalium fosfat monobasa P</i>	2,0 g
<i>Polisorbat 80 P</i>	0,1 g
<i>Agar P</i>	10,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi  $6,7 \pm 0,2$ .

MEDIA 41

<i>Digesti pankreatik kasein P</i>	9,0 g
<i>Dekstrosa P</i>	20,0 g
<i>Ekstrak ragi P</i>	5,0 g
<i>Natrium sitrat P</i>	10,0 g
<i>Kalium fosfat monobasa P</i>	1,0 g
<i>Kalium fosfat dibasa P</i>	1,0 g
<i>Air</i>	1000 ml

pH setelah sterilisasi  $6,8 \pm 0,1$

**Dapar Fosfat Dan Larutan Lain**

Buat seperti di bawah ini atau dengan cara lain yang sesuai, dapar fosfat yang diperlukan untuk antibiotik yang ditetapkan. Dapar disterilkan setelah pembuatan dan pH yang tertera pada masing-masing adalah pH setelah sterilisasi.

**Dapar Nomor 1;** 1%; pH 6,0. Larutkan 2,0 g *kalium fosfat dibasa P* dan 8,0 g *kalium fosfat monobasa P* dalam 1000 ml air. Atur pH hingga  $6,0 \pm 0,05$  dengan asam fosfat 18 N atau *kalium hidroksida 10 N*.

**Dapar Nomor 3;** 0,1 M; pH 8,0 Larutkan 16,73 g *kalium fosfat dibasa P* dan 0,523 g *kalium fosfat monobasa P* dalam air 1000 ml. Atur pH hingga  $8,0 \pm 0,1$  dengan asam fosfat 18 N atau *kalium hidroksida 10 N*.

**Dapar Nomor 4;** 0,1 M; pH 4,5 Larutkan 13,61 g *kalium fosfat monobasa P* dalam 1000 ml air. Atur pH hingga  $4,5 \pm 0,05$  dengan asam fosfat 18 N atau *natrium hidroksida 10 N*.

**Dapar Nomor 6;** 10%; pH 6,0 Larutkan 20,0 g *kalium fosfat dibasa P* dan 80,0 g *kalium fosfat monobasa P* dalam 1000 ml air. Atur pH hingga  $6,0 \pm 0,05$  dengan asam fosfat 18 N atau *natrium hidroksida 10 N*.

**Dapar Nomor 10;** 0,2 M; pH 10,5 Larutkan 35,0 g *kalium fosfat dibasa P* dalam 1000 ml air dan tambahkan 2 ml *kalium hidroksida 10 N*. Atur pH hingga  $10,5 \pm 0,1$  dengan asam fosfat 18 N atau *kalium hidroksida 10 N*.

**Dapar Nomor 16;** 0,1 M; pH 7,0 Larutkan 13,6 g *kalium fosfat dibasa P* dan 4,0 g *kalium fosfat monobasa*

*P* dalam 1000 ml air. Atur pH hingga  $7,0 \pm 0,2$  dengan asam fosfat 18 N atau *natrium hidroksida 10 N*.

**Larutan Lain** Gunakan bahan-bahan tertera pada *Pereaksi, Indikator dan Larutan*. Untuk air, gunakan *Air Murni*; untuk *natrium klorida* gunakan *Injeksi Natrium Klorida*; untuk *formaldehida encer* adalah *Larutan Formaldehida* yang diencerkan dengan air 1:3.

**UNIT DAN BAKU PEMBANDING**

Potensi antibiotik dinyatakan dalam "unit" atau " $\mu\text{g}$ " aktivitas. Pada umumnya "unit" atau " $\mu\text{g}$ " aktivitas antibiotik. *Baku Pembanding Farmakope Indonesia (BPMI)* dikalibrasi terhadap baku primer antibiotik yang bersangkutan. *Antibiotik BPMI* dibuat dan diedarkan oleh instansi yang berwenang.

Pengertian " $\mu\text{g}$ " aktivitas berasal dari sediaan antibiotik yang dipilih sebagai baku pembanding yang dianggap secara keseluruhan terdiri dari bahan kimia tunggal, dan oleh karena itu dinyatakan potensi 1000 " $\mu\text{g}$ " per mg. Dalam beberapa hal, sebagai hasil pengembangan metode pembuatan dan pemurnian antibiotik tertentu, aktivitas sediaan dapat lebih dari 1000 " $\mu\text{g}$ " per mg. Karenanya dapat dimengerti bahwa sediaan yang demikian mempunyai aktivitas yang setara dengan jumlah tertentu " $\mu\text{g}$ " baku pembanding asli. Tetapi pada umumnya " $\mu\text{g}$ " aktivitas adalah tepat setara secara numerik dengan  $\mu\text{g}$  (bobot) sediaan murni. Kesulitan timbul pada beberapa keadaan seperti jika antibiotik terdiri dari bentuk basa bebas dan garamnya, dan " $\mu\text{g}$ " aktivitas dinyatakan untuk salah satu dari bentuk tersebut; bahan antibiotik terdiri dari sejumlah komponen yang mempunyai sifat kimia yang sangat mirip tetapi mempunyai aktivitas antibiotik yang berbeda; atau potensi dari satu kelompok antibiotik dinyatakan dengan baku pembanding yang merupakan salah satu antibiotik anggotanya, tetapi sediaan itu sendiri dapat tidak serba sama (heterogen). Dalam hal ini " $\mu\text{g}$ " aktivitas dinyatakan dalam "unit". " $\mu\text{g}$ " aktivitas harus tidak dianggap sama dengan  $\mu\text{g}$  (bobot) dari bahan antibiotik.

**PENYIAPAN BAKU**

Untuk menyiapkan larutan persediaan, larutkan sejumlah baku pembanding antibiotik yang ditimbang saksama dan sebelumnya telah dikeringkan seperti tertera pada *Tabel 1*, atau seluruh isi satu vial, jika diperlukan, dalam pelarut seperti tertera pada tabel tersebut, kemudian encerkan hingga kadar yang dikehendaki. Simpan dalam lemari pendingin dan gunakan dalam waktu yang ditentukan. Pada hari penetapan, buat pengenceran dari larutan persediaan 5 atau lebih larutan untuk pengujian dengan kadar bertahap, umumnya dengan perbandingan 1:1,25 untuk penetapan dengan prosedur *Lempeng-Silinder* atau lebih kecil untuk penetapan turbidimetri. Gunakan pengencer akhir yang dinyatakan dan urutan kadar dengan dosis tengah yang ditentukan.

**TABEL 1**  
**PENYIAPAN LARUTAN PEMBANDING PERSEDIAAN DAN PENGECERANNYA**

Antibiotik dan cara penetapan [Cara Lempeng (CL) atau turbidimetri (T)]	Larutan persediaan			Enceran uji	
	Pelarut awal (Kadar ditetapkan sebelumnya) [pengencer selanjutnya bila berbeda]	Kadar persediaan akhir per ml	Batas waktu penggunaan	Pengencer akhir	Dosis tengah ( $\mu\text{g}$ aktivitas atau unit per ml)
Amfoterisin B (CL)	Dimetil sulfoksida	1 mg	hari yang sama	D.10	1,0 $\mu\text{g}$
Amikasin (T)	Air	1 mg	14 hari	Air	10 $\mu\text{g}$
Bleomisin (CL)	D.16	2 U	14 hari	D.16	0,04 U
Demeklosiklin (T)	Asam klorida 0,1 N	1 mg	4 hari	Air	0,1 $\mu\text{g}$
Dihidrostreptomisin (CL)	D.3	1 mg	30 hari	D.3	1,0 $\mu\text{g}$
Dihidrostreptomisin (T)	Air	1 mg	30 hari	Air	30 $\mu\text{g}$
Doksisiklin (T)	Asam klorida 0,1 N	1 mg	5 hari	Air	0,1 $\mu\text{g}$
Eritromisin (CL)	Metanol (10 mg/ml); [D.3]	1 mg	14 hari	D.3	1,0 $\mu\text{g}$
Gentamisin (CL)	D.3	1 mg	30 hari	D.3	0,1 $\mu\text{g}$
Gramisidin (T)	Alkohol 95%	1 mg	30 hari	Alkohol 95%	0,04 $\mu\text{g}$
Kanamisin (T)	Air	1 mg	30 hari	Air	10 $\mu\text{g}$
Kandisidin (T)	Dimetilsulfoksida	1 mg	hari yang sama	Air	0,06 $\mu\text{g}$
Kapreomisin (T)	Air	1 mg	7 hari	Air	100 $\mu\text{g}$
Karbenisilin (CL)	D.1	1 mg	14 hari	D.1	20 $\mu\text{g}$
Kloksasilin (CL)	D.1	1 mg	7 hari	D.1	5,0 $\mu\text{g}$
Kloramfenikol (T)	Alkohol (10 mg/ml); [Air]	1 mg	30 hari	Air	2,5 $\mu\text{g}$
Klortetrasiklin (T)	Asam klorida 0,01 N	1 mg	4 hari	Air	0,06 $\mu\text{g}$
Kolistin (CL)	Air (10 mg/ml); [D. 6]	1 mg	14 hari	D.6	1,0 $\mu\text{g}$
Metasiklin (T)	Air	1 mg	7 hari	Air	0,06 $\mu\text{g}$
Nafsilin (CL)	D.1	1 mg	2 hari	D.1	2,0 $\mu\text{g}$
Natamisin (CL)	Dimetil sulfoksida	1 mg	hari yang sama	D.10	5,0 $\mu\text{g}$
Natrium kolistimetat (CL)	Air (10 mg/ml); [D.6]	1 mg	hari yang sama	D.6	1,0 $\mu\text{g}$
Neomisin (CL)	D.3	1 mg	14 hari	D.3	1,0 $\mu\text{g}$
Neomisin (T)	D.3	100 $\mu\text{g}$	14 hari	D.3	1,0 $\mu\text{g}$
Netilmisin (CL)	D.3	1 mg	7 hari	D.3	0,1 $\mu\text{g}$
Nistatin (CL)	Dimetilformamida	1000 U	hari yang sama	D.6	20 U
Novobiosin (CL)	Alkohol (10 mg/ml); [D.3]	1 mg	5 hari	D.6	0,5 $\mu\text{g}$
Oksitetrasiklin (T)	Asam klorida 0,1 N	1 mg	4 hari	Air	0,24 $\mu\text{g}$
Paromomisin (CL)	D.3	1 mg	21 hari	D.3	1,0 $\mu\text{g}$
Penisilin G (CL)	D.1	1000 U	4 hari	D.1	1,0 $\mu\text{g}$
Polimiksin B (CL)	Air; [D.6]	10.000 U	14 hari	D.6	10 U
Rolitetrasiklin (T)	Air	1 mg	1 hari	Air	0,24 $\mu\text{g}$
Sefalotin (CL)	D.1	1 mg	5 hari	D.1	1,0 $\mu\text{g}$
Sefapirin (CL)	D.1	1 mg	3 hari	D.1	1,0 $\mu\text{g}$
Sikloserin (T)	Air	1 mg	30 hari	Air	50 $\mu\text{g}$
Sisomisin (CL)	D.3	1 mg	14 hari	D.3	0,1 $\mu\text{g}$
Streptomisin (T)	Air	1 mg	30 hari	Air	30 $\mu\text{g}$
Tetrasiklin (T)	Asam klorida 0,1 N	1 mg	1 hari	Air	0,24 $\mu\text{g}$
Tikarsilin (CL)	D.1	1 mg	1 hari	D.1	5,0 $\mu\text{g}$
Tiostrepton (T)	Dimetilsulfoksida	1 U	hari yang sama	Dimetil sulfoksida	0,80 U
Tobramisin (T)	Air	1 mg	14 hari	Air	2,5 $\mu\text{g}$
Troleandomisin (T)	Isopropil alkohol – air (4:1)	1 mg	hari yang sama	Air	25 $\mu\text{g}$
Tilosin (T)	Metanol (10 mg/ml); [D.16]	1 mg	30 hari	D.3:Metanol (1:1)	4 $\mu\text{g}$
Vankomisin (CL)	Air	1 mg	7 hari	D.4	10 $\mu\text{g}$
Zink Basitrasin (CL)	Asam klorida 0,01 N	100 U	hari yang sama	D.1	1,0 U

Catatan: "D" menyatakan "dapar" diikuti nomor sesuai dengan yang tertera pada dapar kalium fosfat.

Untuk amfoterisin B, natrium kolistimetat dan nistatin, buat larutan baku pembanding dan larutan uji secara bersamaan.

Untuk amfoterisin B, encerkan selanjutnya larutan persediaan dengan *dimetil sulfoksida P* hingga diperoleh kadar 12,8; 16; 20; 25 dan 31,2  $\mu\text{g}$  per ml pada saat menjelang membuat larutan uji. Enceran larutan uji harus mengandung sejumlah yang sama *dimetil sulfoksida P* seperti pada enceran larutan baku pembanding.

Untuk zink basitrasin, tiap enceran *Larutan Baku* harus mengandung *asam klorida P* sejumlah sama dengan *Enceran larutan uji*.

Untuk neomisin yang ditetapkan dengan cara *Turbidimetri*, encerkan secara kuantitatif *Larutan persediaan* 100  $\mu\text{g}$  per ml dengan *Dapar nomor 3* hingga diperoleh larutan dengan kadar setara 25,0  $\mu\text{g}$  per ml. Ke dalam labu tentukur 50 ml yang terpisah, masukkan masing-masing 1,39; 1,67; 2,00; 2,40; dan 2,88 ml larutan ini, tambahkan 5,0 ml *asam klorida 0,01 N* pada tiap labu dan encerkan dengan *Dapar nomor 3* sampai tanda, hingga diperoleh kadar neomisin larutan 0,69; 0,83; 1,0; 1,2; 1,44  $\mu\text{g}$  per ml. Gunakan larutan ini untuk membuat garis respons baku.

Untuk Nistatin, encerkan selanjutnya larutan persediaan dengan dimetil formamida hingga diperoleh kadar 256 unit, 320 unit, 400 unit, 500 unit dan 624 unit per ml pada saat menjelang membuat pengenceran *Larutan uji*. Buat *Larutan baku* untuk garis respons bersamaan dengan pengenceran larutan uji. *Enceran larutan uji* harus mengandung sejumlah yang sama dimetilformamida seperti pada larutan baku. Gunakan peralatan kaca aktinik rendah warna merah.

Untuk Polimiksin B, buat larutan persediaan dengan menambahkan 2 ml air untuk tiap 5 mg bahan baku pembanding.

**TABEL 2**  
**MIKROBA UJI UNTUK PENETAPAN ANTIBIOTIK DENGAN PROSEDUR SEPERTI**  
**TERTERA PADA TABEL 1**

Antibiotik	Mikroba uji	Nomor ATCC
Amfoterisin B	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9763
Amikasin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Basitrasin	<i>Micrococcus luteus</i>	10240
Bleomisin	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	607
Demeklosiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Dihidrostreptomisin (CL)	<i>Bacillus subtilis</i>	6633
Dihidrostreptomisin (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Doksisiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Eritromisin	<i>Micrococcus luteus</i>	9341
Gentamisin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Gramisidin	<i>Enterococcus hirae</i>	10541
Kanamisin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Kandisidin	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9763
Kapreomisin	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Karbenisilin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25619
Kloksasilin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Kloramfenikol	<i>Escherichia coli</i>	10536
Klortetrasiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Kolistin	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4617
Metasiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Nafsilin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Natrium kolistimetat	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4617
Neomisin (CL)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Neomisin (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Netilmisin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Nistatin	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2601
Novobiosin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Oksitetrasiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Paramomisin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Penisilin G	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Polimiksin B	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4617
Rolitetrasiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Sefalotin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Sefapirin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Sikloserin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Sisomisin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Spektinomisin	<i>Escherichia coli</i>	10536
Streptomisin (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Tetrasiklin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Tilosin	<i>Staphylococcus aureus</i>	9144
Tiostrepton (T)	<i>Enterococcus hirae</i>	10541
Tobramisin	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Troleandomisin	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Vankomisin	<i>Bacillus subtilis</i>	6633



## PENYIAPAN SAMPEL

Dari informasi yang ada untuk penyiapan sediaan yang akan diuji (contoh), berikan potensi perkiraan tiap satuan bobot atau volume dan berdasarkan perkiraan ini, pada hari penetapan buat larutan persediaan serta enceran larutan uji seperti tertera pada setiap antibiotik dengan pengencer akhir yang sama seperti untuk baku pembandingan. Penetapan menggunakan 5 tingkat dosis baku, memerlukan hanya 1 tingkat dosis sampel pada kadar perkiraan sama dengan tingkat dosis tengah baku.

## MIKROBA DAN INOKULA

### Mikroba Uji

Mikroba uji untuk tiap antibiotik tertera pada Tabel 2 beserta nomor identifikasi *American Type Culture Collection (ATCC)* yang bersangkutan. Metode penetapan dengan mikroba uji tersebut tertera pada Tabel 1. Pelihara biakan pada media agar miring dengan kondisi inkubasi seperti tertera pada Tabel 3 dan pindahkan setiap minggu pada agar miring yang baru. Untuk *Klebsiella pneumoniae* gunakan biakan tidak berkapsul. Untuk *Enterococcus hirae* dapat digunakan biakan tusukan ("stab cultures").

### Penyiapan Inokula

Untuk persiapan penetapan, lepaskan biakan segar mikroba dari agar miring atau biakan lain dalam 3 ml *natrium klorida P* dan butiran kaca steril. Inokulasikan ke permukaan 250 ml media agar seperti tertera pada Tabel 3 dalam sebuah botol Roux, kecuali untuk *Enterococcus hirae* dan *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144), dibiakkan dalam media cair. Sebarkan

suspensi secara merata ke atas permukaan agar dengan bantuan butiran kaca steril dan inkubasikan pada suhu yang ditetapkan selama waktu tertentu. Pada akhir periode inkubasi, buat suspensi persediaan dengan mengumpulkan biakan ke dalam 50 ml larutan *natrium klorida P 0,9%* steril, kecuali untuk bleomisin (gunakan 50 ml *Media 34*).

Tetapkan dengan percobaan, jumlah suspensi persediaan yang dimasukkan untuk *Inokula*, dimulai dengan volume yang tertera pada Tabel 3. Percobaan harus diinkubasikan sesuai waktu yang tertera pada *Metode Turbidimetri* di bagian *Prosedur*. Sesuaikan jumlah *Inokula* pada kebutuhan perhari, jika dibutuhkan, untuk mendapatkan suatu hubungan dosis-respon yang optimum dari jumlah pertumbuhan mikroba uji di dalam tabung dan lama waktu inkubasinya. Pada saat periode inkubasi selesai sesuai dengan yang tertera pada *Metode Turbidimetri* di bagian *Prosedur*, tabung yang mengandung dosis tengah dari *Larutan Baku* harus memiliki serapan paling sedikit 0,3; kecuali untuk amikasin, klortetrasiklin, gramisidin, dan tetrasiklin (serapannya 0,35), dan kapreomisin, metasiklin, dan tobramisin (serapannya 0,4).

Untuk penetapan dengan cara *Lempeng-Silinder* tetapkan dengan percobaan untuk mengatur jumlah suspensi persediaan yang dimasukkan untuk inokula, dimulai dengan volume yang tertera pada Tabel 3 hingga menghasilkan batas daerah hambatan yang memuaskan dengan diameter lebih kurang 14 - 16 mm dan memberikan suatu hubungan dosis yang reproduibel. Buat inokula dengan menambahkan sejumlah suspensi persediaan ke dalam media agar yang telah dicairkan dan didinginkan hingga suhu 45° - 50°, putar hingga diperoleh suspensi homogen.

TABEL 3  
PENYIAPAN INOKULA

Mikroba uji & (Nomor ATCC)	Kondisi Inkubasi			Komposisi inokula yang dianjurkan		Antibiotik yang ditetapkan
	Media	Suhu (°)	Waktu (jam)	Media	Jumlah (ml per 100 ml)	
<i>Bacillus subtilis</i> (6633)	32	32-35	5 hari	5 8	** **	Dihidrostreptomisin, Vankomisin
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (4617)	1	32-35	24	10	0,1	Natrium kolistimetat, Kolistin, Polimiksin B
<i>Escherichia coli</i> (10536)	1	32-35	24	3	0,7	Kloramfenikol
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (10031)	1	36 - 37,5	16 - 24	3 39	0,05 0,1 2	Kapreomisin Streptomisin, Troleandomisin, Dihidrostreptomisin Neomisin
<i>Micrococcus luteus</i> (9341)	1	32-35	24	11	1,5	Eritromisin
<i>Micrococcus luteus</i> (10240)	1	32-35	24	1	0,3	Basitrasin
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (607)	36	36 - 37,5	48	35	1,0	Bleomisin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (25619)	1	36 - 37,5	24	10	0,5	Karbenisilin
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9763)	19	29 - 31	48	13 19	0,2 1,0	Kandisidin Amfoterisin B
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2601)	19	29 - 31	48	19	1,0	Nistatin
<i>Staphylococcus aureus</i> (9144)	3	35 - 39	16-18	39	2-3	Tilosin

Mikroba uji & (Nomor ATCC)	Kondisi Inkubasi			Komposisi inokula yang dianjurkan		Antibiotik yang ditetapkan
	Media	Suhu (°)	Waktu (jam)	Media	Jumlah (ml per 100 ml)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (29737)	1	32 - 35	24	1	0,1	Sefalotin, Sefapirin, Kloksasilin Nafsilin Penisilin G Amikasin, Klordetrasiklin, Demeklosiklin, Doksisiklin, Metasiklin, Oksitetrasiklin, Rolitetrasiklin, Tetrasiklin Kanamisin Sikloserin Tobramisin
				1	0,3	
				1	1,0	
				3	0,1	
				3	0,2	
				3	0,4	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	1	32 - 35	24	11	0,25	Netilmisin Novobiosin Gentamisin, Sisomisin Neomisin Paromomisin
				1	4,0	
				11	0,03	
				11	0,4	
				11	2,0	
<i>Enterococcus hirae</i> (10541)	3	36 - 37,5	16 - 18	3	1,0	Gramisidin Tioestrepton
				40	36 - 37,5	

\*\* Seperti yang disyaratkan.

[Catatan Pada penetapan Karbenisin untuk *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25619), gunakan 0,5 ml dari pengenceran 1:25 dari larutan stok suspensi per 100 ml Medium 10.]

### CARA PENGUJIAN Desain Penetapan

Penetapan secara mikrobiologi memperoleh presisi yang meyakinkan melalui pemisahan sumber-sumber penyebab kesalahan potensial serta bias yang relatif besar dengan menggunakan desain penetapan yang sesuai. Pada penetapan dengan metode *Lempeng-Silinder*, perbandingan pokok dibatasi pada hubungan pengukuran diameter hambatan antar cawan, tidak termasuk variasi di antara cawan pada penyiapannya dan penanganannya berikutnya. Untuk melaksanakan penetapan dengan turbidimetri sehingga perbedaan kekeruhan yang diamati akan menggambarkan perbedaan kadar antibiotik, diperlukan keseragaman suhu tabung melalui pengendali termostatik dalam inkubator dan penghindaran bias sistematis dengan penempatan tabung secara acak dalam rak terpisah, tiap rak terdiri dari satu set perlakuan yang lengkap. Perbandingan pokok kemudian dibatasi pada hubungan antara kekeruhan yang diamati pada tiap rak.

[Catatan: Untuk beberapa tujuan, desain penetapan diatur sedemikian rupa hingga tiap satu set perlakuan terdiri dari tidak kurang dari 3 tabung untuk tiap kadar sampel dan kadar baku, dan tiap set ditempatkan dalam satu rak.]

Dengan pembatasan ini, dianjurkan menggunakan desain penetapan satu tingkat dosis dengan suatu kurva baku. Pada penetapan dengan kurva baku, buat pengenceran larutan sebanyak 5, 6 atau lebih, diantaranya satu kadar sesuai dengan kadar acuan ( $S_3$ ) baku dan larutan uji dengan satu tingkat dosis tengah seperti tertera pada *Penyiapan Larutan Baku dan Sediaan Uji*. Suatu penetapan dipandang sebagai penetapan pendahuluan jika potensi yang dihitung kurang dari 80% atau lebih dari 125% dari yang diperkirakan pada penyiapan larutan uji persediaan. Dalam hal ini, tentukan potensi perkiraan yang sesuai dan ulangi penetapan.

Penetapan potensi secara mikrobiologi dipengaruhi oleh variabel antar-penetapan dan intra-penetapan, sehingga diperlukan dua atau lebih penetapan yang berdiri sendiri untuk perkiraan potensi yang dapat dipercaya dari penetapan sediaan tertentu atau sediaan uji. Penetapan diawali dengan pembuatan terpisah larutan persediaan dan pengenceran baik baku maupun sediaan uji, ulangi penetapan sediaan uji pada hari yang berbeda. Jika potensi perkiraan pada penetapan kedua berbeda secara signifikan dari yang pertama, ditunjukkan oleh kesalahan baku terhitung, maka lakukan satu atau lebih penetapan tambahan. Gabungan hasil suatu seri kecil penetapan yang berdiri sendiri dalam sebaran beberapa hari merupakan perkiraan potensi yang lebih dipercaya daripada satu penetapan yang besar dengan jumlah keseluruhan cawan atau tabung yang sama.

### Metode Lempeng-Silinder

Untuk mempersiapkan penetapan menggunakan cawan Petri, tuang 21 ml *Media 2* ke dalam masing-masing sejumlah cawan yang diperlukan, dan biarkan memadat sebagai lapisan dasar yang licin dengan ketebalan seragam, kecuali untuk amfoterisin B dan nistatin, tidak digunakan lapisan dasar yang terpisah. Untuk eritromisin, entamisin, neomisin B, paromomisin, dan sisomisin gunakan *Media 11*. Untuk bleomisin, gunakan 10 ml *Media 35*. Untuk dihidrostreptomisin gunakan *Media 5*. Untuk vankomisin, gunakan 10 ml *Media 8*. Untuk karbenisilin, natrium kolistimetat, kolistin, dan polimiksin B, gunakan *Media 9*. Untuk netilmisin, gunakan 20 ml *Media 11*. Tambahkan 4 ml lapisan inokula (lihat *Penyiapan Inokula dan Tabel 3*), buat seperti tertera untuk masing-masing antibiotik, kecuali untuk bleomisin (gunakan 6 ml), untuk netilmisin (gunakan 5 ml), untuk nistatin dan amfoterisin B (gunakan 8 ml), putarkan cawan untuk menyebar-ratakan inokula pada permukaan dan biarkan memadat. Jatuhkan 6 buah silinder pada permukaan

yang telah diinokulasi dari ketinggian 12 mm, menggunakan alat mekanik atau alat lain untuk menjamin penempatannya pada radius 2,8 cm, kemudian tutup cawan untuk mencegah kontaminasi. Setelah ke-6 silinder pada tiap cawan Petri diisi dengan enceran larutan antibiotik seperti tertera di bawah ini, inkubasi cawan pada suhu 32° - 35°, atau pada suhu seperti tertera di bawah ini sesuai dengan masing-masing antibiotik selama 16 - 18 jam. Ambil semua silinder, ukur dan catat diameter tiap hambatan pertumbuhan hingga mendekati 0,1 mm. Inkubasi cawan pada suhu 29° - 31° untuk amfoterisin B dan nistatin. Inkubasi novobiosin pada suhu 34° - 36°. Inkubasi pada suhu 36° - 37,5° untuk Karbenisilin, natrium kolistimetat, kolistin, dihidrostreptomisin, gentamisin, neomisin, netilmisin, paromomisin, polimiksin B, sisomisin, dan vankomisin.

Pada penetapan 1 tingkat dosis dengan kurva baku, buat pengenceran dengan 5 tingkat dosis baku ( $S_1$  -  $S_5$ ) dan satu tingkat dosis uji ( $U_3$ ) yang sesuai dengan  $S_3$  kurva baku, seperti tertera pada *Penyiapan Baku dan Penyiapan Sampel Uji*. Untuk memperoleh kurva baku, isi silinder selang-seling pada tiap 3 cawan dengan dosis tengah baku ( $S_3$ ) dan tiap silinder dari 9 silinder sisanya dengan satu dari empat pengenceran larutan baku. Lakukan hal yang sama untuk 3 pengenceran baku lainnya. Untuk tiap sediaan uji, isi silinder selang-seling pada tiap 3 cawan dengan dosis tengah baku ( $S_3$ ) dan 9 silinder sisa dengan enceran larutan uji yang sebanding ( $U_3$ ).

#### Metode Turbidimetri

Pada hari penetapan, siapkan dosis yang diperlukan dengan mengencerkan larutan persediaan baku dan tiap larutan uji seperti tertera pada *Penyiapan Baku dan Penyiapan Sampel*. Tambahkan 1 ml tiap dosis, kecuali untuk gramisidin, tiostrepton, dan tilosin (gunakan 0,10 ml) pada masing-masing 3 tabung reaksi yang telah disiapkan dan tempatkan 3 replikat tabung dengan posisi secara acak pada rak tabung. Secara bersamaan letakkan pada tiap rak 1 tabung atau 2 tabung kontrol yang berisi 1 ml pengencer tanpa antibiotik (lihat *Tabel 1*). Setelah selesai semua pengisian larutan (untuk kandisidin dalam waktu 30 menit ketika air ditambahkan pada *Larutan persediaan metilsulfoksida*), tambahkan 9,0 ml inokula ke dalam tiap tabung pada rak dan setelah lengkap pengisian rak segera ditempatkan dalam inkubator atau tangas air dengan suhu yang dipertahankan pada 36° - 37,5° kecuali untuk kandisidin (inkubasi pada suhu 27° - 29°). Inkubasi tabung selama 4 - 5 jam, kecuali untuk kapreomisin, kloramfenikol, sikloserin, dihidrostreptomisin, spektinomisin, streptomisin, dan troleandomisin (inkubasi selama 3 - 4 jam), tilosin (inkubasi selama 3 - 5 jam), dan kandisidin (inkubasi selama 16 - 18 jam). Setelah inkubasi, tambahkan 0,5 ml larutan formaldehida encer ke dalam tiap tabung, kecuali untuk tilosin (panaskan rak di dalam tangas air pada suhu 80° - 90° selama 2 - 6 menit atau di dalam tangas uap selama 5 - 10 menit, dan biarkan sampai suhu kamar), ambil satu rak sekaligus, dan ukur transmitans atau

serapannya dengan spektrofotometer yang sesuai pada 530 nm atau 580 nm (lihat *Spektrofotometer* pada bagian *Peralatan*).

Pada penetapan 1 tingkat dosis dengan kurva baku, buat pengenceran hingga 5 tingkat dosis larutan baku ( $S_1$  sampai  $S_5$ ) dan satu tingkat dosis larutan uji ( $U_3$ ) dari tiap sediaan sampai dengan 20 sediaan uji yang sama dengan  $S_3$  baku. Buat juga satu  $S_3$  tambahan sebagai uji pertumbuhan. Tambahkan 1 ml masing-masing larutan uji, kecuali untuk gramisidin, tiostrepton, dan tilosin (gunakan 0,10 ml). pada 3 tabung dan 1 ml pengencer bebas antibiotik pada 6 tabung sebagai kontrol. Letakkan secara acak satu set lengkap, termasuk 2 tabung kontrol pada satu rak tabung. Tambahkan 9,0 ml inokula, kecuali untuk tiostrepton (gunakan 10,0 ml inokula), inkubasikan, tambahkan 0,5 ml formaldehida encer dan akhiri penetapan di atas. Tetapkan masa inkubasi yang pasti dengan mengamati pertumbuhan pada kadar rujukan (dosis tengah) pengenceran baku ( $S_3$ ).

#### CARA PERHITUNGAN

Untuk menghitung potensi dari data yang diperoleh dengan metode lempeng silinder atau turbidimetri lakukan seperti tertera pada *Potensi hasil interpolasi dari kurva baku* seperti tertera pada *Desain dan Analisis Penetapan Hayati <81>*, menggunakan metode garis lurus transformasi log dengan prosedur penyesuaian kuadrat terkecil dan uji linieritas. Bila sejumlah penetapan dari bahan uji yang sama dilakukan menggunakan kurva baku yang sama, hitung koefisien variasi dari hasil semua penetapan bahan uji. Bila lebih dari satu penetapan dilakukan untuk bahan uji dengan kurva baku yang berbeda, buat rata-rata dari dua atau lebih nilai potensi.

#### PENETAPAN POTENSI FRAKSI FAKTOR VIII <141>

Potensi fraksi faktor VIII ditetapkan dengan membandingkan jumlah yang diperlukan untuk mengurangi waktu jendal campuran uji yang mengandung semua zat yang berperan dalam penjudan darah, dengan sejumlah sediaan baku yang diperlukan untuk menimbulkan efek sama dalam kondisi metode penetapan yang sesuai. Metode tahap tunggal dapat digunakan jika memberikan hasil yang tidak berbeda bermakna, menggunakan sediaan baku, dengan memperhatikan ketelitian metode.

**Baku pembanding Faktor Koagulasi VIII Darah Manusia BPF1.**

**Metode** Rekonstitusi seluruh isi satu ampul *Faktor Koagulasi VIII Darah Manusia BPF1* dengan 1 ml air, gunakan segera. Ke dalam *Faktor Koagulasi VIII Darah Manusia BPF1* yang telah direkonstitusi dan sediaan uji tambahkan *Dapar imidazol pH 7,3* secukupnya hingga kadar antara 0,5 dan 2 unit per ml; larutan stabil selama 15 menit pada suhu 20°. Buat 3 pengenceran dengan saksama berturut-turut berkelipatan dua dalam rentang (1

dalam 16) sampai (1 dalam 256) menggunakan campuran 1 bagian volume larutan *trinitrium sitrat P* 3,8% dan 5 bagian volume larutan *natrium klorida P* 0,9% hingga waktu jendal antara 17 detik dan 35 detik, gunakan segera. Masukkan ke dalam 6 tabung (75 mm x 10 mm) masing-masing 0,1 ml *Larutan faktor jendal V, Pereaksi fosfolipida* dan *Pereaksi serum normal*. Ke dalam tabung pertama, tambahkan 0,1 ml larutan baku pengenceran tertinggi, tempatkan tabung dalam tangas air pada suhu 37°, tambahkan 0,1 ml *kalsium klorida 0,05 M* dan mulai hitung waktu menggunakan penghitung detik. Menit berikutnya tambahkan 0,1 ml larutan baku pengenceran tertinggi kedua ke dalam tabung kedua, tempatkan tabung ke dalam tangas air dan tambahkan 0,1 ml *kalsium klorida 0,05 M* pada saat 1 menit menggunakan penghitung detik. Ulangi prosedur untuk larutan baku pengenceran terendah dan larutan uji pengenceran tertinggi sampai terendah hingga kalsium klorida ditambahkan pada saat 2 menit, 3 menit, 4 menit dan 5 menit masing-masing menggunakan penghitung detik.

Siapkan 12 tabung kaca masing-masing mengandung 0,2 ml *kalsium klorida 0,025 M* dan tabung selanjutnya mengandung 3 ml *Plasma substrat*. Masukkan dalam tangas air pada suhu 37°. Pada saat 14 menit 40 detik dengan penghitung detik, masukkan 0,1 ml campuran dari tabung inkubasi pertama ke dalam satu tabung yang mengandung 0,2 ml larutan *kalsium klorida P* dan campur. Pada saat 15 menit, tambahkan 0,2 ml *Plasma substrat* hangat dan menggunakan penghitung detik kedua, catat sebagai waktu jendal, interval antara penambahan *Plasma substrat* dan indikasi pertama terbentuknya fibrin yang dapat dilihat secara visual atau dengan alat mekanik. Ulangi prosedur menggunakan tabung inkubasi lain pada interval 1 menit dan lakukan penetapan seri kedua pada saat 21 - 26 menit. Periode inkubasi diatur hingga waktu jendal dari penetapan yang berkaitan dalam dua seri tidak berbeda lebih dari 5%, dan menunjukkan pembentukan aktivator protrombin plato stabil telah tercapai. Untuk memastikan tidak terdapat cemaran bermakna dari pereaksi dengan faktor jendal VIII, lakukan penetapan blangko dengan cara larutan uji diganti dengan sejumlah setara campuran 1 bagian volume larutan *trinitrium sitrat P* 3,8% dan 5 bagian volume larutan *natrium klorida P* 0,9%. Hasil penetapan tidak absah jika waktu jendal yang dicatat dalam penetapan blangko kurang dari 40 detik. Hitung hasil penetapan menggunakan metode statistik baku.

### Pereaksi

*Larutan faktor jendal V* Larutan faktor jendal V dibuat dengan metode di bawah ini atau dengan metode lain dengan meniadakan faktor VIII. Buat dari plasma segar sapi beroksalat dengan fraksinasi pada suhu 4° dengan larutan jenuh *amonium sulfat P* yang dibuat pada suhu 4°. Gunakan fraksi yang mengendap pada kejenuhan antara 38% dan 50% (mengandung faktor jendal V tidak tercemar dengan faktor jendal VIII secara bermakna), dialisa untuk menghilangkan amonium sulfat dan encerkan dengan larutan *natrium klorida P* 0,9% hingga diperoleh larutan yang mengandung antara 10 dan 20 %

jumlah faktor jendal V yang terdapat dalam plasma segar normal manusia.

Tetapkan kandungan faktor jendal V dalam larutan dengan cara sebagai berikut: Buat dua pengenceran dalam *Dapar imidazol pH 7,3* yang mengandung 1 bagian volume larutan uji dalam 10 bagian volume dan 20 bagian volume. Lakukan uji pada tiap pengenceran sebagai berikut: Campur masing-masing 0,1 ml *Plasma substrat kekurangan faktor jendal V*, enceran larutan uji, *ekstrak trombokinase* dan *kalsium klorida 0,025 M*. Catat sebagai waktu jendal, interval antara penambahan larutan kalsium klorida dan indikasi pertama terbentuk fibrin yang dapat dilihat secara visual atau dengan alat mekanik.

Dengan cara yang sama lakukan penetapan waktu jendal rangkap dua, untuk 4 pengenceran dari kumpulan plasma normal manusia dalam *Dapar imidazol pH 7,3* yang masing-masing mengandung 1 bagian volume dalam 10 bagian volume (setara dengan 100% faktor jendal V), 50 bagian volume (20%), 100 bagian volume (10%) dan 1000 bagian volume (1%).

Untuk menghitung hasil waktu jendal, buat rata-rata waktu jendal untuk setiap pengenceran plasma manusia pada kertas grafik log putaran ganda terhadap kesetaraan persentase faktor jendal V dan baca persentase faktor jendal V untuk dua pengenceran dari *Larutan faktor jendal V* dengan cara interpolasi kurva. Rata-rata dari dua hasil yang diperoleh sebagai persentase faktor jendal V dalam larutan.

*Pereaksi serum normal* Kumpulkan darah normal manusia dalam botol kaca kering steril, inkubasi pada suhu 37° selama 3 jam, biarkan pada suhu 4° selama semalam, pisahkan serum, beku keringkan dan simpan dalam desikator hampa udara di atas *fosfor pentoksida P*. Larutkan sejumlah serum kering yang dihitung diperoleh dari 1 ml serum dalam *Dapar imidazol pH 7,3* secukupnya hingga 10 ml dan biarkan pada suhu 4° selama 24 - 36 jam.

*Otak lembu jantan yang dikeringkan dengan aseton* Potong otak segar lembu jantan yang sebelumnya telah dibebaskan dari pembuluh darah dan jaringan ikat menjadi bagian kecil. Masukkan ke dalam *aseton P* untuk dehidrasi awal. Sempurnakan dehidrasi dengan cara menumbuk sejumlah 30 g bahan di dalam mortir beberapa kali berturut-turut dengan 75 ml *aseton P* di dalam mortir, beberapa kali berturut-turut sampai diperoleh serbuk kering setelah penyaringan. Kemudian keringkan pada suhu 37° selama 2 jam hingga semua sisa aseton menguap.

*Fosfolipida* Cuci sejumlah otak manusia normal atau otak sapi dan bebaskan dari selaput otak dan pembuluh darah dan maserasi dalam alat pencampur yang sesuai. Timbang 1000 - 1300 g maserat dan ukur volume (v ml). Ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 4 kali v ml *aseton P*, saring dengan diisap dan keringkan endapan pada suhu 37° selama semalam. Ekstraksi endapan kering dua kali, tiap kali dengan 2 kali v ml campuran 2 bagian volume *eter minyak tanah P* (jarak didih 30° - 40°) dan 3 bagian volume *eter minyak tanah P* (jarak didih 40° - 60°), saring masing-masing ekstrak melalui kertas saring yang sebelumnya telah dicuci dengan campuran eter minyak

tanah. Kumpulkan ekstrak dan uapkan sampai kering pada suhu 45° pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg. Larutkan sisa dalam 0,2 v ml eter P dan biarkan pada suhu 4° hingga terbentuk endapan. Sentrifus dan uapkan beningan di bawah pengurangan tekanan hingga volume lebih kurang 100 ml per kg dari maserat asal. Biarkan pada suhu 4° hingga terbentuk endapan (12 - 24 jam) dan sentrifus. Ke dalam beningan tambahkan 5 bagian volume aseton P, sentrifus, buang beningan, keringkan endapan dan simpan dalam desikator hampa udara, terlindung cahaya.

**Pereaksi fosfolipida** Suspensikan 125 mg fosfolipida dalam 5 ml air, kocok dan aduk hingga diperoleh suspensi yang homogen. Buat pengenceran dengan larutan natrium klorida P 0,9% hingga memberikan perbedaan waktu jendal minimum sesuai dengan perbedaan waktu jendal terbesar antara pengenceran berturut-turut dari sediaan baku dan sediaan uji. Umumnya kadar antara 50 µg dan 250 µg per ml. Suspensi encer dapat disimpan pada suhu -20° selama 6 minggu.

**Plasma substrat** Pisahkan plasma dari 9 bagian volume darah manusia atau darah sapi yang ditampung dalam 1 bagian volume larutan trinitrat P 3,8% atau dari 3,5 bagian volume darah manusia atau darah sapi yang ditampung dalam 1 bagian volume larutan yang mengandung dinatrium hidrogen sitrat P 2% dan D-glukosa P 2,5%. Pada kasus pertama, Plasma substrat dibuat pada hari pengambilan darah. Pada kasus kedua, Plasma substrat dapat dibuat hingga 2 hari setelah pengambilan darah.

**Plasma substrat kekurangan faktor jendal V** Sebaiknya gunakan plasma yang berkekurangan bawaan atau dibuat dengan cara sebagai berikut: Pisahkan plasma dari darah manusia yang dikumpulkan dalam 0,1 bagian volume larutan natrium oksalat P 1,34% dan inkubasi pada suhu 37° selama 24 - 36 jam. Plasma ini harus mempunyai waktu jendal dari 70 detik sampai 100 detik, jika dilakukan penetapan seperti tertera pada penetapan kandungan dalam Larutan faktor jendal V; jika waktu jendal kurang dari 70 detik, inkubasi plasma selama 12 - 24 jam lagi. Simpan dalam jumlah kecil pada suhu 20° atau di bawah -20°.

**Ekstrak trombokinase** Ekstraksi 1,5 g Otak lembu jantan yang dikeringkan dengan aseton dalam 60 ml air pada suhu 50° selama 10 - 15 menit, sentrifus selama 2 menit pada 1500 rpm dan tuang beningan. Aktivitas ekstrak ini akan bertahan beberapa hari jika disimpan di dalam lemari pendingin. Larutan kresol P 0,03% dapat ditambahkan sebagai bakterisida.

## PENETAPAN POTENSI FRAKSI FAKTOR IX <151>

Potensi fraksi faktor IX ditetapkan dengan membandingkan jumlah sediaan uji yang diperlukan waktu jendal campuran uji yang mengandung sejumlah zat yang berperan dalam penjendalan darah, kecuali faktor jendal IX dengan jumlah sediaan baku yang

diperlukan untuk menimbulkan efek sama dalam kondisi metoda penetapan yang sesuai.

**Baku pembanding Faktor koagulasi faktor IX Darah Manusia BPF1** (mengandung sejumlah aktivitas faktor jendal IX).

**Metode Larutan uji** Larutkan isi wadah dalam volume tertentu air setara dengan volume air untuk injeksi P seperti tertera pada etiket. Jika sediaan uji mengandung heparin, netralkan heparin dengan penambahan volume yang sesuai dari Injeksi Protamin Sulfat yang mengandung 5 mg protamin sulfat per ml (seperti tertera pada penetapan Heparin dalam Fraksi Faktor IX).

Rekonstitusi seluruh isi satu ampul Faktor Koagulasi IX Darah Manusia BPF1 dengan 1 ml air dan gunakan segera.

Buat larutan baku primer dari Faktor Koagulasi IX Darah Manusia BPF1 dalam Plasma kekurangan faktor IX, hingga mengandung lebih kurang 1 unit aktivitas faktor jendal IX FI per ml. Buat dengan cara pengenceran yang sama larutan dari sediaan uji, hingga diperkirakan mempunyai kadar sama. Inkubasi larutan pada suhu 37° selama 5 menit. Buat dari masing-masing larutan 2 set terdiri dari 3 seri pengenceran dalam Dapar imidazol pH 7,3 mengandung antara 0,1 unit dan 0,01 unit per ml. Masukkan 0,1 ml dari masing-masing pengenceran set pertama kedalam tabung uji terpisah, masing-masing mengandung 0,1 ml Plasma kekurangan faktor IX dan tandai tabung dengan S<sub>1</sub>, untuk set pengenceran sediaan uji. Masukkan 0,1 ml dari masing-masing pengenceran set kedua kedalam tabung uji terpisah, masing-masing mengandung 0,1 ml Plasma kekurangan faktor IX dan tandai tabung dengan S<sub>2</sub> dan U<sub>2</sub> dengan cara sama. Kedalam isi masing-masing tabung, dengan urutan S<sub>1</sub>, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, S<sub>2</sub>, tambahkan 0,1 ml enceran yang sesuai dari Pereaksi sefalin dan tempatkan tabung dalam tangas air pada suhu 37°. Setelah 30 detik tambahkan 0,1 ml Suspensi kaolin, tepat 10 menit kemudian tambahkan 0,1 ml kalsium klorida 0,025 M dan catat waktu jendal. Ulangi prosedur menggunakan 2 set pengenceran segar dimulai dari kata "Masukkan 0,1 ml masing-masing dari pengenceran set pertama ...." tetapi tandai masing-masing tabung dengan S<sub>3</sub>, U<sub>3</sub>, S<sub>4</sub> dan U<sub>4</sub> dan atur secara berurutan U<sub>3</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, U<sub>4</sub>. Untuk memastikan tidak terdapat cemaran bermakna dari pereaksi dengan faktor jendal I, lakukan penetapan blanko dengan mengganti Larutan uji dengan volume setara Dapar imidazol pH 7,3. Hasil penetapan absah jika waktu jendal blanko antara 100 detik dan 200 detik. Hitung hasil penetapan menggunakan metode statistik baku.

### Pereaksi

**Pereaksi sefalin** Pelarut yang digunakan untuk membuat pereaksi harus mengandung antioksidan yang sesuai seperti hidroksianisol butilat P dengan kadar 0,1 mM. Ke dalam 0,5 g - 1 g Otak lembu jantan yang dikeringkan dengan aseton, tambahkan 20 ml aseton P dan diamkan selama 2 jam, sentrifus selama 2 menit pada 500 gravitasi dan tuang beningan. Keringkan sisa pada

tekanan 15 mmHg dan ekstraksi bahan kering dengan 20 ml kloroform P selama 2 jam, kocok campuran berkali-kali. Setelah pemisahan bahan padat dengan penyaringan atau sentrifus, uapkan kloroform dari ekstrak pada tekanan 15 mmHg. Suspensikan sisa dalam 5 ml hingga 10 ml larutan natrium klorida P 0,9 % . Emulsi persediaan dapat disimpan beku atau beku kering selama 3 bulan.

*Plasma kekurangan faktor IX* Sediaan plasma manusia dengan aktivitas faktor IX tak terdeteksi, disimpan pada suhu 20° selama tidak lebih dari 3 bulan.

*Suspensi kaolin* Suspensikan 0,4 g kaolin ringan P dalam 100 ml larutan natrium klorida P 0,9%. Kocok segera sebelum digunakan.

## PENETAPAN POTENSI INSULIN <161>

Manifestasi utama dari aktivitas insulin, yaitu menurunkan kadar gula darah secara tiba-tiba yang merupakan dasar untuk penetapan biologis potensi insulin. Prosedur penetapan walaupun relatif tidak praktis, mempunyai nilai yang besar karena secara akurat menggambarkan dengan tepat efek pada penderita diabetes. Adanya metode fisikokimia yang canggih (misalnya kromatografi cair) merupakan uji secara kuantitatif yang memiliki tingkat akurasi dan presisi tinggi untuk mengukur potensi insulin dan sediaan insulin. Walaupun metode ini canggih tetapi tidak dapat menggambarkan bioidentitas insulin dan sediaan insulin tersebut. Selanjutnya uji kualitatif pada kelinci dimasukkan dalam bab ini dan penggunaannya ada dalam setiap monografi yang sesuai.

*Metode kuantitatif gula darah kelinci* digunakan untuk penetapan potensi baku pembanding insulin, untuk validasi stabilitas sediaan insulin baru dan untuk penetapan aktifitas spesifik dari analog insulin.

### Metode Kuantitatif Gula Darah Kelinci

**Baku pembanding** *Dekstrosa BPFi*, bentuk anhidrat dari dekstrosa; keringkan pada suhu 105° selama 16 jam sebelum digunakan, simpan dalam wadah tertutup rapat. *Insulin BPFi*; simpan pada suhu tidak lebih dari -15°. Setelah vial dibuka, tanpa penundaan, pindahkan secara saksama isi vial ke dalam labu tentukur kering dan bersih yang sesuai. Tutup rapat labu, simpan dalam lemari pembeku. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan untuk uji atau penetapan kadar. *Insulin Manusia BPFi*; simpan dalam lemari pendingin pada suhu antara -20° dan -18°. Setelah vial dibuka tanpa penundaan, pindahkan secara saksama isi vial ke dalam labu tentukur kering dan bersih yang sesuai. Tutup rapat labu, simpan dalam lemari pembeku. Tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan untuk uji atau penetapan kadar. *Insulin (sapi) BPFi*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam lemari pembeku pada suhu antara -20° dan -18°, dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya dan kelembaban. *Insulin (babi) BPFi*; tidak boleh dikeringkan, simpan dalam lemari pembeku pada suhu antara -20° dan -18°.

Setelah dibuka, simpan dalam wadah tertutup rapat, lindungi dari cahaya dan kelembaban.

**Pengencer** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, siapkan larutan dalam air mengandung *kresol P* atau *fenol P* 0,1% - 0,25% (b/v), *gliserin P* 1,4% - 1,8% (b/v), dan *asam klorida P* yang sesuai untuk mengatur pH antara 2,5 dan 3,5.

**Larutan baku persediaan** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, larutkan secara kuantitatif sejumlah *Insulin BPFi* yang ditimbang saksama atau satu vial beku kering *Insulin BPFi*, dari spesies yang sesuai dalam *Pengencer* untuk membuat larutan baku persediaan yang mengandung 40 unit Insulin FI per ml dan mempunyai pH antara 2,5 dan 3,5. Simpan di tempat dingin, hindari dari pembekuan dan gunakan dalam waktu 6 bulan.

**Larutan baku** Encerkan sejumlah *Larutan baku persediaan* dengan *Pengencer* untuk membuat dua larutan, masing-masing mengandung 1,0 unit Insulin FI per ml (larutan baku 1) dan 2,0 unit Insulin FI per ml (larutan baku 2).

**Larutan uji persediaan** Lakukan seperti tertera pada *Larutan baku persediaan*, kecuali menggunakan sejumlah zat uji sebagai pengganti *Insulin BPFi*. Larutan mengandung lebih kurang 40 unit Insulin FI per ml.

**Larutan uji** Encerkan sejumlah *Larutan uji persediaan* dengan *Pengencer* untuk membuat dua enceran uji, berdasarkan potensi yang diasumsikan, mengandung 1,0 unit Insulin FI per ml (*Larutan Uji 1*) dan 2,0 unit Insulin FI per ml (*Larutan Uji 2*). Jika injeksi insulin netral, atur pH antara 2,5 dan 3,5 sebelum membuat enceran.

**Dosis enceran yang akan disuntikkan** Pilih dosis enceran yang akan disuntikkan berdasarkan percobaan atau pengalaman, umumnya volume antara 0,30 ml dan 0,50 ml. Untuk masing-masing hewan volume *Larutan baku* sama dengan *Larutan uji*.

**Penyiapan hewan uji** Pilih kelinci sehat yang sesuai dengan bobot tubuh tidak kurang dari 1,8 kg. Kelinci diaklimatisasi di laboratorium selama tidak kurang dari 1 minggu sebelum digunakan, pelihara dengan pakan yang seragam dan air tersedia sepanjang waktu.

**Prosedur** Kelinci dibagi 4 kelompok yang sama dengan tidak kurang dari 6 pada setiap kelompok. Pada hari sebelumnya, lebih kurang 20 jam sebelum penetapan, sediakan sejumlah pakan untuk masing-masing kelinci yang akan dikonsumsi dalam waktu 6 jam. Ikuti jadwal pemberian makan setiap hari pengujian. Selama pengujian, puasakan kelinci sampai seluruh pengambilan specimen darah selesai. Perlakukan kelinci secara hati-hati untuk mencegah kegelisahan, dan suntik secara subkutan sejumlah dosis yang ditetapkan sesuai rancangan (lihat *Tabel 1*), penyuntikkan kedua dilakukan

pada hari berikutnya, atau tidak lebih dari 1 minggu kemudian. Waktu antara injeksi pertama dan kedua adalah sama untuk setiap kelinci.

**Tabel 1**

Kelompok	Penyuntikan pertama	Penyuntikan kedua
1	Larutan Baku 2	Larutan Uji 1
2	Larutan Baku 1	Larutan Uji 2
3	Larutan Uji 2	Larutan Baku 1
4	Larutan Uji 1	Larutan Baku 2

**Contoh darah** Pada 1 jam±5 menit dan 2,5 jam±5 menit setelah penyuntikan, ambil spesimen darah dari setiap kelinci melalui vena tepi telinga atau lebih efektif dari arteri aurikularis.

**Penetapan dekstrosa** Tetapkan kandungan dekstrosa dari spesimen darah dengan prosedur yang sesuai yang diadaptasi dengan analisis secara otomatis. Prosedur dibawah ini dapat digunakan.

*Larutan antikoagulan* Larutkan 1 g natrium EDTA dan 200 mg natrium fluorida dalam 1 liter air, campur.

*Larutan baku dekstrosa* Pindahkan sejumlah Dekstrosa BPF1 yang diketahui kadarnya kedalam labu tentukur yang sesuai dan encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan *Larutan antikoagulan* (1:9) untuk mendapatkan rentang kadar antara 20 dan 100 mg per 100 ml, yang diketahui sama dengan kadar pada sampel darah kelinci.

*Larutan uji* Pipet secara terpisah 0,1 ml setiap sampel darah, masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 0,9 ml *Larutan antikoagulan*.

*Prosedur* Lakukan dialisa *Larutan uji* melalui membran semipermeable dalam waktu yang cukup sehingga dekstrosa melewati membran masuk ke dalam larutan *salin LP* yang mengandung glukosa oksidase, "horseradish peroxidase", 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorida LP, dan N,N-dimetilanilin. Tetapkan serapan *Larutan Uji* pada 600 nm pada kolorimeter. Lakukan penetapan serupa terhadap serapan *Larutan Baku Dekstrosa* pada awal dan akhir setiap penetapan.

**Perhitungan** Hitung respons setiap kelinci pada tiap penyuntikan dari jumlah 2 nilai gula darah, dan kurangi respons tanpa memperhatikan urutan kronologis respons yang diamati, untuk memperoleh perbedaan individu, y, seperti dijelaskan pada *Tabel 2*.

Jika data dari satu atau lebih kelinci hilang pada penetapan, jangan gunakan rumus interval kepercayaan yang tertera, tapi gunakan rumus statistik lain. Data tetap dapat dianalisa menggunakan analisa variansi yang sesuai.

Jika jumlah kelinci, f, dilakukan melalui penetapan yang sama dalam setiap kelompok, jumlah y's dalam setiap kelompok dan hitung  $T_a = -T_1 + T_2 + T_3 - T_4$  dan  $T_b = T_1 + T_2 + T_3 + T_4$ . Logaritma potensi relatif dari enceran uji adalah  $M\Box = 0,301 T_a/T_b$ . Potensi injeksi dalam Unit per mg setara dengan antilog ( $\log R + M\Box$ ), dimana  $R = v_s/v_u$ ,  $v_s$  adalah jumlah unit per ml *Larutan Baku* dan  $v_u$  adalah jumlah mg insulin per ml yang sesuai *Larutan Uji*.

Tetapkan rentang kepercayaan 95% untuk log potensi relatif menggunakan teori Fieller's (lihat *Desain dan Analisis Penetapan Hayati* <81>). Jika rentang kepercayaan lebih dari 0,082, yang sesuai pada  $P = 0,95$  dengan batas kepercayaan lebih kurang 10% dari potensi yang dihitung, ulangi pengujian hingga gabungan data dari dua atau lebih penetapan, tetapkan kembali seperti tertera pada *Kombinasi dari Penetapan yang Berdiri Sendiri* dalam *Desain dan Analisis Penetapan Hayati* <81>, memenuhi batas yang dapat diterima.

**Tabel 2**

Ke lom pok	Perbedaan	Respon Individu (y)	Respons Total (T)	Standar Deviasi Perbedaan (S)
1	Larutan Baku 2 Larutan Uji 1	y <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	S <sub>1</sub>
2	Larutan Uji 2- Larutan Baku 1	y <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>	S <sub>2</sub>
3	Larutan Uji 2- Larutan Baku 1	y <sub>3</sub>	T <sub>3</sub>	S <sub>3</sub>
4	Larutan Baku 2- Larutan Uji 1	y <sub>4</sub>	T <sub>4</sub>	S <sub>4</sub>

**UJI BIOIDENTITAS**

Lakukan seperti pada *Metode Kuantitatif Gula Darah Kelinci* dengan modifikasi sebagai berikut :

**Prosedur** Kelinci dibagi dalam 4 kelompok yang sama, masing-masing kelompok 2 kelinci.

**Perhitungan** Lakukan perhitungan seperti pada *Metode Kuantitatif Gula Darah Kelinci*, tetapi tidak menetapkan rentang kepercayaan dari log potensi relatif, M'.

**Interpretasi hasil** Jika nilai potensi yang diperoleh adalah tidak kurang dari 15 unit FI per mg, persyaratan *Uji bioidentitas* terpenuhi. Jika nilai potensi kurang dari 15 unit FI per mg, ulangi pengujian dengan menggunakan 8 kelinci lebih dari jumlah awal. Jika potensi rata-rata dari 2 kumpulan uji kurang dari 15 unit FI per mg, persyaratan uji terpenuhi.

**Lampiran**

**Teori Fieller untuk Penetapan Rentang Kepercayaan Perbandingan**

Versi Teori Fieller ini digunakan bila pembilang dan penyebut tidak saling berhubungan. Asumsi persamaan pembilang dan penyebut terdistribusi normal dan kelompok kelinci ukurannya sama.

Selanjutnya rentang kepercayaan 95% untuk rasio adalah: M

$$(L,U) = \frac{M' \pm \frac{t}{Tb} \sqrt{(1-g)S^2N + (M')^2S_D^2}}{1-g}$$

$f$  adalah derajat kebebasan pada *standard errors* =  $4(k-1)$ ,  $k$  adalah jumlah kelinci pada setiap kelompok;  $t$  adalah persentil atas 97,5 dari distribusi  $t$  dengan derajat kebebasan  $f$  dan

$$(L,U) = \frac{t^2 S_D^2}{T_B^2}$$

Jika  $g \geq 1$ , penyebut tidak berbeda signifikan dari 0 sehingga rumus tidak dapat dipakai,

$$S_N = 0,301 \sqrt{k} \sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + S_4^2}$$

$$S_D = 0,301 \sqrt{k} \sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + S_4^2}$$

#### PENETAPAN POTENSI STREPTOKINASE <171>

Potensi streptokinase ditetapkan dengan membandingkan kemampuannya untuk mengaktivasi plasminogen manusia menjadi plasmin terhadap *Sediaan baku*. Plasmin yang dihasilkan ditentukan dengan cara mengukur waktu lisis yang dibutuhkan untuk melisis jendalan fibrin pada kondisi metode penetapan yang sesuai.

**Sediaan baku** Sediaan baku *Streptokinase-Streptodornase BPF1*, terdiri dari campuran beku kering streptokinase dan streptodornase dengan laktosa atau sediaan lain yang aktivitasnya telah dibakukan dengan *Streptokinase-Streptodornase BPF1*.

**Penetapan potensi** Jika tidak dinyatakan lain, gunakan *dapar fosfat-sitrat pH 7,2* yang mengandung 3% *serum albumin serum sapi P* untuk membuat dan mengencerkan larutan.

Buat larutan *Sediaan baku* mengandung lebih kurang 1000 unit streptokinase per ml dan buat larutan sediaan uji dengan kadar lebih kurang sama. Simpan larutan tersebut dalam es dan gunakan dalam waktu tidak lebih dari 6 jam. Buat tiga seri pengenceran larutan sediaan baku dengan faktor pengenceran 1,5 sehingga waktu lisis jendalan yang terlama tidak lebih dari 20 menit. Buat larutan yang sama untuk sediaan uji. Simpan larutan dalam es dan gunakan dalam waktu tidak lebih dari 1 jam. Gunakan 24 tabung bergaris tengah 8 mm, tandai tabung  $S_1, S_2, S_3$  sesuai dengan pengenceran sediaan baku dan  $T_1, T_2, T_3$  sesuai dengan pengenceran sediaan uji, untuk tiap pengenceran digunakan 4 tabung. Letakkan semua tabung dalam es. Ke dalam tiap tabung masukkan masing-masing 0,2 ml larutan yang sesuai, 0,2 ml larutan

*dapar fosfat-sitrat pH 7,2* mengandung 3% *albumin serum sapi P* dan 0,1 ml larutan trombin mengandung 20 unit per ml. Letakkan semua tabung dalam tangas air 37° dan biarkan selama 2 menit hingga tercapai suhu yang merata. Dengan pipet otomatis masukkan ke dasar tabung pertama 0,5 ml larutan *Fraksi euglobulin 1%*, campur. Kemudian dengan selang waktu 5 detik masukkan berturut-turut ke dalam tabung 0,5 ml larutan *Fraksi euglobulin 1%*. Dengan menggunakan penghitung waktu, ukur waktu dalam detik mulai dari penambahan euglobulin dan saat terjadinya lisis jendalan dalam tiap tabung. Hitung hasil uji dengan metode statistik baku menggunakan logaritma waktu analisis.

#### Pereaksi

**Fraksi Euglobulin** Gunakan darah segar manusia yang ditampung dalam wadah mengandung larutan antikoagulan (misalnya larutan natrium sitrat) atau darah manusia untuk transfusi yang ditampung dalam kantong plastik darah tepat mencapai waktu kadaluarsa. Buang darah yang mengalami hemolisis. Sentrifus dengan kecepatan 1500 - 1800 g pada suhu 15°, sehingga diperoleh plasma bening mengandung sedikit trombosit. Plasma dari golongan darah yang sama dapat dicampur.

Tambahkan 75 g *barium sulfat P* pada 1 liter plasma manusia dan kocok selama 30 menit. Sentrifus dengan kecepatan tidak kurang dari 15.000 gravitasi pada suhu 15°, ambil beningan. Tambahkan 10 ml larutan *aprotinin P* mengandung 0,2 mg per ml dan kocok. Masukkan 25 liter air suhu 4° ke dalam wadah berukuran tidak kurang dari 30 liter dalam ruangan bersuhu 4°. Tambahkan lebih kurang 500 g karbon dioksida padat. Segera tambahkan sambil diaduk cairan beningan yang diperoleh dari plasma, terbentuk endapan putih. Biarkan mengendap pada suhu 4° selama 10 - 15 jam. Buang beningan jernih dengan pipa sifon. Kumpulkan endapan dengan cara sentrifus pada suhu 4°. Suspensikan endapan dengan mendispersikan secara mekanik dalam 500 ml air pada suhu 4°. Kocok selama 5 menit dan kumpulkan endapan dengan cara sentrifus pada suhu 4°. Dispersikan endapan secara mekanik dalam 60 ml larutan mengandung larutan *natrium klorida P* 0,9% dan larutan *natrium sitrat P* 0,09%, atur pH hingga 7,2 - 7,4 dengan penambahan larutan *natrium hidroksida P* 1%. Saring melalui penyaring kaca masir; untuk mempermudah kelarutan, haluskan partikel endapan dengan alat yang sesuai. Cuci penyaring dan alat penghalus dengan 40 ml larutan klorida-sitrat dan encerkan hingga 100 ml dengan pelarut sama. Beku keringkan larutan, umumnya diperoleh antara 6 - 8 g euglobulin per liter plasma manusia.

**Uji kesesuaian** Buat larutan menggunakan *dapar fosfat-sitrat pH 7,2* mengandung 3% *albumin serum sapi P*. Masukkan 0,1 ml larutan sediaan baku streptokinase mengandung 10 unit per ml dan 0,1 ml larutan trombin mengandung 20 unit per ml ke dalam tabung pada suhu 37°. Dengan cepat tambahkan 1 ml larutan *Fraksi euglobulin* mengandung 10 mg per ml. terbentuk jendalan padat yang jelas dalam waktu kurang dari 10 detik. Catat waktu yang diperlukan mulai saat penambahan larutan



*Fraksi euglobulin* sampai saat terjadinya lisis jendalan. Waktu lisis tidak lebih dari 15 menit.

**Larutan trombin** Larutan *Sediaan baku* trombin manusia mengandung 20 unit per ml dalam *dapar fosfat-sitrat pH 7,2* mengandung 3% *albumin serum sapi P*.

**Sediaan Baku Trombin Manusia** Adalah Baku Internasional yang pertama dari campuran beku-kering trombin manusia murni dengan sukrosa.

**Wadah dan penyimpanan** Pada suhu 4° terlindung dari kelembaban dan gunakan dalam waktu tidak lebih dari 1 tahun.

## PERANGKAT INFUS DAN TRANSFUSI <181>

Persyaratan ini digunakan untuk alat kesehatan yang pada etiket tertera steril atau non-pirogen atau alat yang kontak langsung atau tidak langsung dengan sistem kardiovaskular, sistem limfatik atau cairan serebrospinal. Semua alat kesehatan diantaranya perangkat pemberian larutan, perangkat perpanjangan fungsi organ, perangkat pemindah, perangkat pemberian darah, kateter intravena, alat oksigenerator luar tubuh yang ditanam dan perlengkapannya, alat dan slang dialisis beserta perlengkapannya, katup jantung, alat cangkok pembuluh darah, graf vaskular, kateter pemberian obat secara intramuskular, dan perangkat infus dan transfusi. Persyaratan ini tidak berlaku untuk produk ortopedi, sarung tangan karet atau pembalut luka.

**Sterilitas** Memenuhi syarat; lakukan penetapan menurut *Alat Kesehatan Steril* seperti tertera pada *Uji Sterilitas <71>*.

**Endotoksin bakteri** Lakukan seperti tertera pada *Uji Endotoksin Bakteri <201>*.

Untuk alat kesehatan, batas endotoksin bakteri tidak lebih dari 20,0 unit endotoksin FI per alat, kecuali untuk alat kesehatan yang kontak dengan cairan serobrospinal batas endotoksin tidak lebih dari 2,15 unit endotoksin FI.

Alat yang gagal memenuhi persyaratan, dapat diulang sekali lagi dengan *Uji Endotoksin bakteri* yang lain. Untuk alat kesehatan yang tidak dapat diuji menggunakan *Uji Endotoksin Bakteri <201>* karena penghambat atau pemacu uji tidak dapat dihilangkan, lakukan *Uji Pirogen <231>*.

**Penyiapan alat** Pilih tidak kurang dari 3 tetapi tidak lebih dari 10 alat. Cuci atau rendam alat dengan *Pereaksi air LAL*. Volume larutan pencuci atau pengekstrak disesuaikan dengan ukuran dan konfigurasi alat.

Untuk alat dengan etiket "jalur cairan nonpirogenik" alirkan pada jalur cairan pengekstrak yang telah dipanaskan 37°±1,0°, jaga cairan pengekstrak tetap kontak dengan jalur yang relevan tidak kurang dari 1 jam pada suhu ruang terkontrol. Ekstrak dikumpulkan, jika

memungkinkan. Batas endotoksin pada larutan pencuci atau pengekstrak dihitung menggunakan rumus:

$$(K \times N)/(V)$$

*K* adalah jumlah endotoksin yang diperbolehkan per alat, *N* adalah jumlah alat yang diuji, dan *V* adalah volume total ekstrak atau pencuci. Jika larutan pencuci atau pengekstrak tak diencerkan tidak sesuai untuk *Uji Endotoksin Bakteri <201>*, ulangi uji penghambat atau pemacu setelah netralisasi dan pembuangan zat pengganggu atau setelah larutan diencerkan dengan suatu faktor yang tidak melebihi Pengenceran Valid Maksimum. Pengenceran valid maksimum suatu alat dihitung dengan cara membagi batas endotoksin dengan sensitivitas  $\lambda$  pada etiket *Air Pereaksi LAL* yang digunakan.

**Pirogen** Untuk contoh yang tidak dapat diuji dengan *Uji Endotoksin Bakteri <201>* karena penghambat atau pemacu uji tidak dapat dihilangkan, lakukan *Uji Pirogen <231>*. Pilih 10 sampel, dan untuk mendapat cairan gabungan, gunakan metode penyiapan untuk alat yang sesuai seperti tertera pada *Uji Endotoksin Bakteri <201>*, tetapi menggunakan cairan pencuci atau pengekstrak tidak lebih dari 40 ml larutan natrium klorida P 0,9% steril bebas pirogen per alat. Memenuhi syarat *Uji Pirogen <231>*.

**Persyaratan lain** Alat kesehatan yang terbuat dari plastik atau polimer lain memenuhi syarat *Uji Biologi-Plastik dan Polimer lain* seperti tertera pada *Wadah Plastik <1131>*. Alat kesehatan yang terbuat dari elastomer memenuhi syarat seperti tertera pada *Tutup Elastomer untuk Injeksi <721>*. Jika penandaan kelas elastomer, plastik dan polimer lain diperlukan, lakukan uji in-vivo yang sesuai seperti tertera pada bab uji umum pada *Uji Reaktivitas Biologi, In Vivo <251>*.

## UJI DAYA HIPOTENSIF <191>

**Baku pembanding Histamin Dihidroklorida BPFI**; lakukan pengeringan diatas silika gel selama 2 jam, sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung cahaya.

**Larutan baku histamin** Timbang seksama sejumlah *Histamin Dihidroklorida BPFI* larutkan dalam air hingga kadar setara dengan 1,0 µg histamin basa per ml.

**Hewan uji** Gunakan kucing dewasa sehat, bila betina pastikan tidak hamil, dan timbang bobot tubuh, suntikkan secara intraperitoneal bahan anastesi seperti fenobarbital natrium untuk mempertahankan tekanan darah. Hewan uji disekap sedemikian hingga dapat mencegah kehilangan panas tubuh yang berlebihan. Bila dikehendaki masukan kanula trakhea. Paparkan karotid atau arteri lain yang sesuai, pisahkan dari jaringan sekelilingnya dan catat tekanan darah berkesinambungan menggunakan

manometer atau alat lain yang mempunyai kepekaan sama atau lebih. Kemudian paparkan vena femoral sebagai tempat penyuntikan intravena.

Tetapkan kepekaan hewan uji terhadap histamin dengan menyuntikan *Larutan baku histamin* yang setara dengan 0,05 µg, 0,1 µg dan 0,15 µg histamin basa per kg bobot tubuh hewan uji, dengan interval waktu yang sama tidak kurang dari 5 menit. Ulangi penyuntikan dan abaikan respons seri pertama yang timbul. Tetapkan variasi respon hipotensif terhadap dosis yang sama dengan pengulangan penyuntikan 0,1 µg per kg. Gunakan hewan uji hanya jika respons terhadap pemberian dosis yang bertingkat jelas berbeda dan respons terhadap beberapa penyuntikan dengan dosis 0,1 µg per kg lebih kurang sama dan sebanding dengan penurunan tekanan yang tidak kurang dari 20 mmHg. Bila dosis *Larutan baku histamin* dan *Larutan uji* disuntikan melalui kanula tunggal, tiap penyuntikan pada uji pendahuluan dan pada uji berikutnya segera diikuti dengan penyuntikan lebih kurang 2,0 ml *Injeksi Natrium Klorida* untuk menghilangkan aktivitas yang tersisa.

**Prosedur** Larutan sediaan uji dengan pelarut yang telah ditetapkan hingga memberikan dosis seperti tertera pada masing-masing monografi. Ikuti jadwal waktu yang sama dengan waktu yang diperlukan selama penyuntikan *Larutan baku histamin*. Lakukan satu seri penyuntikan terdiri dari 3 dosis yaitu di antara 2 penyuntikan dengan dosis 0,1 µg histamin basa per kg, diseling dengan dosis tertentu larutan uji seperti tertera pada masing-masing monografi. Ukur perubahan tekanan darah setelah setiap penyuntikan. Respons hipotensif terhadap larutan uji tidak lebih besar dari setengah respons rata-rata yang disebabkan oleh penyuntikan 0,1 µg histamin basa per kg. Jika tidak memenuhi syarat, lanjutkan dengan satu seri penyuntikan yang sama dengan di atas, hingga terdiri dari 5 dosis dengan tiga dosis 0,1 µg histamin basa per kg diseling dua dosis larutan uji seperti tertera pada masing-masing monografi. Ukur perubahan tekanan darah setelah setiap penyuntikan ulang. Respons hipotensif terhadap tiap dosis larutan uji tidak lebih besar dari respons rata-rata yang disebabkan penyuntikan 0,1 µg histamin basa per kg berurutan.

Jika respons hipotensif terhadap salah satu dosis larutan uji lebih besar dari respons rata-rata terhadap 0,1 µg histamin basa per kg, lanjutkan pengujian pada hewan yang sama atau hewan lain yang telah dipersiapkan sama dan telah diuji responsnya terhadap *Larutan baku histamin*. Jika pengujian dilanjutkan pada hewan yang sama, setelah dosis terakhir *larutan baku histamin* dari seri awal, berikan 4 penyuntikan lagi yaitu dua dosis larutan uji dan dua dosis 0,1 µg histamin basa per kg secara berseling. Jika pengujian dilanjutkan pada hewan lain, buat larutan uji segar dari wadah lain, dan suntikkan satu seri terdiri dari 5 dosis *Larutan baku histamin* dan larutan uji sesuai dengan urutan penyuntikan semula. Ukur perubahan tekanan darah setelah setiap penyuntikan tambahan. Hitung perbedaan respons antara setiap dosis larutan uji dan respons rata-rata disebabkan oleh 0,1 µg histamin basa per kg dalam seluruh seri, awal dan tambahan dan hitung rata-rata

semua perbedaan tersebut. Pengujian memenuhi syarat bila rata-rata dari perbedaan tersebut sedemikian hingga respons hipotensif terhadap larutan uji tidak lebih besar dari respons hipotensif yang disebabkan penyuntikan 0,1 µg histamin basa per kg, dan jika tidak lebih dari setengah dari respons hipotensif terhadap larutan uji lebih besar dari respons rata-rata dari masing-masing respons hipotensif yang disebabkan penyuntikan 0,1 µg histamin basa per kg.

## ENDOTOKSIN BAKTERI <201>

Uji endotoksin bakteri adalah uji untuk mendeteksi atau mengkuantifikasi endotoksin bakteri yang mungkin terdapat dalam sampel yang diuji. Pengujian dilakukan menggunakan *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL) yang diperoleh dari ekstrak air amebosit dalam kepiting ladam kuda (*Limulus polyphemus* atau *Tachypleus tridentatus*) dan dibuat khusus sebagai pereaksi LAL.<sup>1)</sup>

Terdapat dua tipe teknik uji, teknik pembentukan jendal gel dan teknik fotometrik. Teknik fotometrik mencakup metode turbidimetri, yang didasarkan pada pembentukan kekeruhan setelah penguraian substrat endogen, dan metode kromogenik yang didasarkan pada pembentukan warna setelah terjadi penguraian kompleks kromogen-peptida sintetik. Lakukan salah satu dari teknik tersebut, kecuali jika dinyatakan lain dalam monografi. Jika terjadi keraguan, maka keputusan akhir didasarkan pada hasil Teknik Pembentukan Jendal Gel, kecuali dinyatakan lain dalam monografi.

Pada Teknik Pembentukan Jendal Gel, penetapan titik akhir reaksi dilakukan dengan membandingkan langsung enceran dari zat uji dengan enceran endotoksin baku, dan jumlah endotoksin dinyatakan dalam unit Endotoksin (UE).

Pereaksi LAL diformulasikan juga untuk digunakan dalam pengujian turbidimetri dan kolorimetri, maka pengujian-pengujian tersebut dapat digunakan untuk memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Kedua uji ini memerlukan pembuatan kurva regresi baku dan kandungan endotoksin dari zat uji ditetapkan dengan interpolasi dari kurva tersebut. Prosedur meliputi inkubasi selama waktu yang telah ditetapkan dari endotoksin yang bereaksi dan larutan kontrol dengan pereaksi LAL, dan pembacaan serapan cahaya pada panjang gelombang yang sesuai. Pengukuran titik akhir pada prosedur secara turbidimetri, pembacaan dilakukan segera pada akhir masa inkubasi. Pengukuran titik akhir pada prosedur secara kolorimetri, reaksi dihentikan pada akhir dari waktu yang telah ditetapkan, dengan penambahan zat pemutus-reaksi-enzim, sebelum pengukuran. Pada penetapan kadar secara kinetik (turbidimetri dan kolorimetri), serapan diukur selama periode reaksi dan dari pengukuran tersebut ditetapkan nilai kecepatan reaksi.

## ALAT DAN ALAT GELAS

Depirogenasi seluruh peralatan gelas dan bahan tahan panas lainnya dalam oven udara panas menggunakan proses yang telah divalidasi.<sup>2)</sup>

Umumnya waktu dan suhu minimum yang digunakan adalah 30 menit pada 250°. Jika menggunakan

Peralatan plastik, misalnya *microplate* dan *pipet tips* untuk pipet otomatis, gunakan hanya yang sudah dibuktikan bebas endotoksin dan tidak akan mengganggu pengujian. [Catatan: Pada bagian ini, istilah *tabung* dimaksudkan untuk semua wadah, misalnya *sumur mikro-titer*.]

- 1) Perekasi LAL bereaksi dengan beberapa  $\beta$ -glukan bila ditambahkan pada endotoksin. Beberapa sediaan yang diperlakukan tidak bereaksi dengan  $\beta$ -glukan dan harus digunakan untuk contoh yang mengandung glukan.
- 2) Prosedur untuk uji validasi inaktivasi endotoksin, lihat *Sterilisasi Pemanasan Kering* dalam *Sterilisasi dan Jaminan Sterilitas untuk Bahan Kompendial <1371>*. Gunakan pereaksi LAL dengan sensitivitas tidak kurang dari 0,15 UE per ml.

## PENYIAPAN

### LARUTAN INDUK BAKU PEMBANDING DAN LARUTAN BAKU PEMBANDING ENDOTOKSIN

Baku pembanding endotoksin (BPE) adalah *Endotoksin BPF1* yang telah diketahui potensinya dalam UE per vial. Konstitusi seluruh isi vial BPE dengan 5,0 ml air pereaksi LAL<sup>3)</sup>. [Catatan Air pereaksi LAL adalah air untuk injeksi atau air lain yang tidak bereaksi dengan pereaksi LAL yang digunakan pada batas kepekaan pereaksi.]

Campur dengan pengocok vorteks secara *intermiten* selama 30 menit. Gunakan larutan pekat ini untuk membuat seri pengenceran yang sesuai. Simpan larutan pekat dalam lemari pendingin, selama tidak lebih dari 14 hari untuk membuat pengenceran berikutnya. Sebelum digunakan kocok kuat dengan pengocok vorteks selama tidak kurang dari 3 menit. Campur setiap enceran tidak kurang dari 30 detik sebelum membuat pengenceran berikutnya. Enceran tidak boleh disimpan karena menyebabkan hilangnya aktivitas oleh penyerapan, kecuali ada data penunjang tentang hal ini.

### Uji Persiapan

Gunakan Pereaksi LAL yang sudah ditetapkan kepekaannya sesuai dengan yang tertera pada etiket.

Keabsahan hasil uji untuk endotoksin bakteri ini memerlukan pembuktian yang cukup bahwa contoh bahan atau larutan, pencuci, atau ekstrak yang digunakan pada uji, tidak menghambat atau memacu reaksi atau dapat mengganggu pengujian dengan cara apapun. Validasi dilakukan dengan *Uji penghambatan atau pemacuan* sebagaimana yang diuraikan pada 3 teknik yang telah disebutkan sebelumnya. Dalam uji ini harus dimasukkan kontrol negatif yang sesuai. Validasi harus diulang jika sumber Pereaksi LAL atau metode pembuatan atau formulasi bahan berubah.

### Penyiapan Larutan Uji

Siapkan larutan uji dengan melarutkan atau mengencerkan obat, atau mengekstraksi alat kesehatan dengan *Air Pereaksi LAL*. Beberapa bahan atau sediaan mungkin lebih baik dilarutkan, diencerkan atau

diekstraksi dalam larutan mengandung air lainnya. Jika perlu, atur pH larutan (atau hasil pengencerannya) yang akan diuji hingga pH campuran pereaksi LAL dan larutan uji terletak pada rentang pH yang ditentukan oleh produsen pereaksi LAL. Hal ini biasanya digunakan pada produk dengan rentang pH 6,0-8,0. Pengaturan pH dapat dilakukan dengan menggunakan asam, basa atau larutan dapar yang sesuai dengan rekomendasi produsen pereaksi LAL. Asam dan basa dapat dibuat dari konsentrat atau padatan dengan *Air Pereaksi LAL* dalam wadah bebas endotoksin. Larutan dapar harus divalidasi bebas endotoksin dan faktor pengganggu.

### PENETAPAN PENGECERAN MAKSIMUM YANG ABSAH (PMA)

Pengenceran Maksimum yang Absah (PMA) adalah pengenceran maksimum yang diperbolehkan dari suatu contoh agar batas endotoksinnya dapat ditetapkan. Pengenceran Maksimum yang Absah diberlakukan untuk injeksi atau larutan parenteral terkonstitusi atau diencerkan, atau jika diperlukan, untuk jumlah obat dalam bobot jika volume obat yang diberikan bervariasi. Persamaan umum untuk menentukan PMA adalah:

$$PMA = (\text{batas endotoksin} \times \text{konsentrasi larutan sampel}) / \lambda$$

$\lambda$  adalah kepekaan Pereaksi LAL yang tertera pada etiket (UE/mL).

Hubungan konsentrasi larutan sampel dan  $\lambda$  dijelaskan di bawah ini :

- Jika batas endotoksin dalam monografi dinyatakan dalam konsentrasi (UE/mL), maka PMA dapat dihitung dengan rumus:

$$PMA = \text{batas endotoksin (UE/mL)} / \lambda$$

- Jika batas endotoksin dalam monografi dinyatakan dalam UE/mg atau UE/Unit, maka PMA dapat dihitung dengan rumus umum tersebut di atas,  $PMA = (\text{batas endotoksin} \times \text{konsentrasi sampel}) / \lambda$ .

PMA yang diperoleh adalah batas pengenceran yang diperbolehkan untuk uji yang absah.

Konsentrasi sampel dengan satuan (mg/mL atau Unit/mL)

## PENETAPAN BATAS ENDOTOKSIN

Batas endotoksin obat parenteral, ditetapkan berdasarkan dosis, sama dengan  $K/M^4$ . K adalah dosis ambang pirogenik endotoksin pada manusia per kg berat

- 3) Air steril untuk injeksi atau air lain yang tidak menunjukkan reaksi spesifik dengan pereaksi LAL yang akan digunakan, pada batas sensitivitas pereaksi.
- 4) K adalah 5 UE per kg untuk semua cara pemberian selain dari intratekal (K adalah 0,2 UE per kg berat badan). Untuk sediaan radiofarmaka yang tidak diberikan secara intratekal, batas endotoksin dihitung sebagai  $175/V$ , V adalah dosis maksimum dalam ml yang direkomendasikan. Untuk sediaan radiofarmaka yang diberikan secara intratekal. Batas endotoksin ditetapkan dengan rumus  $14/V$ . Untuk formulasi (biasanya produk antikanker) diberikan berdasarkan pada  $m^2$  luas permukaan tubuh, dengan rumus  $K/M$ ,  $K=5$  UE per kg dan M adalah (dosis maksimum/ $m^2$ /jam x 1,80  $m^2$ )/70 kg.

## CARA JENDAL GEL

Cara jendal gel mendeteksi atau mengkuantitas endotoksin berdasarkan pembentukan jendal dari pereaksi LAL dengan adanya endotoksin. Konsentrasi endotoksin yang dibutuhkan untuk menyebabkan *lysate* menjendal pada kondisi standar dinyatakan sebagai kepekaan pereaksi LAL yang tertera pada etiket. Untuk menjamin presisi dan keabsahan pengujian, lakukan uji konfirmasi kepekaan pereaksi LAL yang tercantum dalam etiket dan uji faktor pengganggu seperti tertera dalam *Uji Persiapan untuk Cara Jendal Gel*.

### Uji Persiapan untuk Cara Jendal Gel

**Uji Konfirmasi Kepekaan Pereaksi LAL** Lakukan konfirmasi kepekaan pereaksi yang tertera pada etiket menggunakan tidak kurang dari 1 vial untuk setiap lot pereaksi LAL. Buat pengenceran seri kelipatan 2 dari BPE dalam *Air Pereaksi LAL* hingga konsentrasi  $2\lambda$ ;  $\lambda$ ;  $0,5\lambda$ ; dan  $0,25\lambda$ .  $\lambda$  adalah kepekaan pereaksi LAL yang tertera pada etiket (UE/mL). Lakukan uji pada 4 konsentrasi larutan baku, dalam 4 replikasi termasuk kontrol negatif. Uji konfirmasi kepekaan *lysate* dilakukan bila menggunakan pereaksi LAL betas baru atau bila ada perubahan dalam kondisi uji yang dapat mempengaruhi hasil uji.

Campur pereaksi LAL dengan larutan baku dari masing-masing konsentrasi dalam tabung uji dengan volume yang sama (0,1 ml). Jika digunakan vial atau ampul uji tunggal berisi pereaksi LAL kering beku, tambahkan larutan langsung ke dalam vial atau ampul. Inkubasi campuran reaksi dalam waktu yang tetap sesuai dengan petunjuk produsen pereaksi LAL (biasanya  $37^\circ \pm 1^\circ$ , selama  $60 \pm 2$  menit), hindari getaran. Untuk menguji integritas gel, ambil setiap tabung langsung dari inkubator dan balikkan  $180^\circ$  secara perlahan-lahan. Jika telah terbentuk gel yang kuat, yang tetap di tempatnya walaupun telah dibalik, catat sebagai hasil positif. Jika gel tidak terbentuk atau gel yang terbentuk jatuh ketika dibalik, maka hasil dinyatakan negatif. Uji dinyatakan absah, jika larutan baku konsentrasi terendah memberikan hasil negatif pada semua replikasi uji.

Titik akhir adalah konsentrasi terendah yang masih memberikan hasil positif dari satu pengenceran seri.

badan, dan M sama dengan dosis maksimum produk pada manusia per kg berat badan dalam periode satu jam. Dalam masing-masing monografi, batas endotoksin obat parenteral dinyatakan dalam unit, misalnya UE/ml, UE/mg atau UE/unit aktivitas biologi.

Hitung nilai rata-rata dari logaritma konsentrasi titik akhir,  $e$ , dan hitung antilogaritma dari nilai rata-rata menggunakan rumus berikut:

Rata-rata geometrik konsentrasi titik akhir = antilog ( $\sum e/f$ )

$\sum e$  adalah jumlah logaritma konsentrasi titik akhir dari pengenceran seri yang digunakan; dan  $f$  adalah jumlah replikasi. Rata-rata geometri konsentrasi titik akhir adalah hasil pengukuran kepekaan pereaksi LAL (UE/ml). Jika hasil pengukuran kepekaan tidak kurang dari  $0,5\lambda$  dan tidak lebih dari  $2\lambda$ , maka kepekaan yang tercantum di etiket sesuai dan dapat digunakan dalam pelaksanaan pengujian dengan *lysate*.

**Uji Faktor Pengganggu untuk Cara Jendal Gel.** Siapkan larutan A, B, C, dan D seperti tertera pada *Tabel 1* dan lakukan uji penghambatan atau pemacuan pada larutan sampel yang diencerkan kurang dari PMA, tidak mengandung endotoksin, dan ikuti prosedur dalam *Uji Konfirmasi Kepekaan Pereaksi LAL* Rata-rata geometrik konsentrasi titik akhir dari larutan B dan C, ditetapkan dengan menggunakan persamaan uji di atas.

Uji ini harus diulang apabila terjadi perubahan kondisi yang dapat mempengaruhi hasil uji. Uji dinyatakan absah apabila larutan A dan D memberikan hasil negatif, dan hasil larutan C sesuai dengan kepekaan yang tertera pada etiket.

Jika kepekaan *lysate* yang diperoleh dalam larutan uji pada larutan B tidak kurang dari  $0,5\lambda$  dan tidak lebih dari  $2\lambda$ , maka larutan uji tidak mengandung faktor pengganggu pada kondisi uji yang digunakan. Jika sebaliknya, berarti terdapat faktor pengganggu.

Jika sampel yang diuji tidak memberikan hasil yang sesuai pada pengenceran yang digunakan, ulangi uji menggunakan pengenceran yang lebih besar, tetapi tidak boleh melebihi PMA. Bila digunakan *lysate* yang lebih peka, maka pengenceran sampel lebih besar, dan dalam hal ini dapat mengurangi pengganggu.

Gangguan dapat diatasi dengan penanganan yang sesuai misalnya penyaringan, netralisasi, dialisis, atau pemanasan. Untuk memastikan bahwa penanganan yang dipilih efektif menghilangkan gangguan tanpa menghilangkan endotoksin, lakukan pengujian di bawah ini menggunakan sediaan uji dengan penambahan BPE sesuai dengan perlakuan yang dipilih.

### Uji Batas Jendal Gel

Uji ini dilakukan bila dalam monografi disebutkan batas endotoksin.

**Prosedur** Siapkan larutan A, B, C dan D seperti tertera pada *Tabel 2* dan lakukan pengujian larutan ini mengikuti prosedur *Uji Konfirmasi Kepekaan Pereaksi LAL*, yang dijelaskan dalam Uji Persiapan Cara Jendal Gel.

**Interpretasi** Uji absah jika kedua replikasi kontrol positif larutan B dan C memberikan hasil positif dan

kedua kontrol negatif larutan D adalah negatif. Sediaan uji memenuhi syarat jika diperoleh hasil negatif pada kedua tabung reaksi yang berisi larutan A, dan tidak memenuhi syarat jika diperoleh hasil positif pada dua tabung.

Ulangi pengujian jika diperoleh hasil positif pada satu tabung reaksi berisi larutan A dan hasil negatif pada tabung lainnya. Sediaan uji memenuhi syarat jika diperoleh hasil negatif pada kedua tabung reaksi pada pengujian ulang. Jika pengujian positif untuk sediaan uji dengan pengenceran lebih kecil dari PMA, pengujian dapat diulang dengan pengenceran tidak melebihi PMA.

**Tabel 1** Penyiapan Larutan untuk Uji Penghambatan/Pemacuan Cara Jendal Gel

Larutan	Konsentrasi endotoksin/Larutan yang ditambah endotoksin	Pengencer	Faktor pengencer	Kadar endotoksin awal	Jumlah replikasi
A <sup>a</sup>	0 / larutan sampel	---	---	---	4
B <sup>b</sup>	2λ / larutan sampel	larutan sampel	1	2λ	4
			2	1λ	4
			4	0,5λ	4
			8	0,25λ	4
C <sup>c</sup>	2λ/air untuk uji endotoksin bakteri	Air Pereaksi LAL	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0,5λ	2
			8	0,25λ	2
D <sup>d</sup>	0/Air Pereaksi LAL	---	---	---	2

<sup>a</sup> Larutan A : larutan sampel dari sediaan uji yang bebas endotoksin

<sup>b</sup> Larutan B : Uji faktor pengganggu

<sup>c</sup> Larutan C : Kontrol kepekaan pereaksi LAL sesuai etiket

<sup>d</sup> Larutan D : Kontrol negatif air pereaksi LAL

**Tabel 2.** Penyiapan Larutan untuk Pengujian Batas Pembentukan Jendal Gel

Larutan*	Kadar Endotoksin/Larutan yang ditambah endotoksin	Jumlah replikasi
A	0/ larutan sampel yang diencerkan	2
B	2λ/ larutan sampel yang diencerkan	2
C	2λ/air pereaksi LAL	2
D	0 / air pereaksi LAL	2

\*Siapkan larutan A dan kontrol positif produk larutan B dengan pengenceran tidak melebihi PMA dan lakukan seperti tertera pada uji faktor pengganggu teknik pembentukan jendal gel, dalam *Uji Persiapan untuk Cara Jendal Gel*. Kontrol positif larutan B dan C mengandung endotoksin baku dengan konsentrasi dua kali kepekaan pereaksi LAL yang tercantum pada etiket. Kontrol negatif, larutan D, adalah *Air Pereaksi LAL*.

### Penetapan Kadar Endotoksin Bakteri dengan Cara Jendal Gel

Penetapan kadar ini menghitung jumlah endotoksin bakteri dalam larutan sampel dengan cara titrasi hingga titik akhir.

**Prosedur** Siapkan larutan A,B,C dan D seperti tertera pada *Tabel 3* dan uji larutan ini mengikuti prosedur *Uji Konfirmasi Kepekaan Pereaksi LAL*, tertera dalam *Uji Persiapan untuk Cara Jendal Gel*.

**Tabel 3** Penyiapan Larutan untuk Penentuan Kadar Pembentukan Jendal Gel

Larutan	Kadar endotoksin/ Larutan dengan penambahan endotoksin	Pengencer	Faktor pengencer	Kadar endotoksin awal	Jumlah replikasi
A <sup>a</sup>	0 / larutan sampel	air pereaksi LAL	1	-	2
			2	-	2
			4	-	2
			8	-	2
B <sup>b</sup>	2λ/ larutan sampel	-	1	2λ	2
C <sup>c</sup>	2λ/air pereaksi LAL	air pereaksi LAL	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0,5λ	2
			8	0,25λ	2
D <sup>d</sup>	0 / air pereaksi LAL	-	-	-	2

<sup>a</sup> Larutan A : larutan sampel pada pengenceran tidak lebih dari PMA yang pengujian terhadap faktor pengganggu pembentukan jendal gel telah dilakukan. Pengenceran sampel berikutnya tidak lebih dari PMA. Gunakan air pereaksi LAL untuk membuat seri pengenceran dalam empat tabung berisi larutan sampel yang diuji dengan kadar 1, ½, ¼, dan 1/8, relatif terhadap pengenceran yang pengujian terhadap faktor pengganggu telah dilakukan. Pengenceran lainnya dapat digunakan bila sesuai.

<sup>b</sup> Larutan B : Larutan A mengandung endotoksin baku pada kadar  $2\lambda$  (kontrol positif produk)

<sup>c</sup> Larutan C : Dua seri dari 4 tabung air pereaksi LAL mengandung endotoksin baku dengan kadar berturut-turut  $2\lambda$ ,  $\lambda$ ,  $0,5\lambda$  dan  $0,25\lambda$ .

<sup>d</sup> Larutan D : Air pereaksi LAL (kontrol negatif).

**Perhitungan dan Interpretasi Uji** absah jika kondisi berikut dipenuhi: (1) Kedua replikasi dari kontrol negatif larutan D adalah negatif; (2) Kedua replikasi dari kontrol positif larutan B adalah positif; (3) Rata-rata geometrik kadar titik akhir larutan C berada dalam rentang  $0,5\lambda - 2\lambda$ .

Untuk menentukan kadar endotoksin dalam larutan A, hitung kadar titik akhir setiap seri replikasi dari pengenceran dengan mengalikan tiap faktor pengenceran titik akhir dengan  $\lambda$ . Kadar endotoksin dalam sampel adalah rata-rata geometrik kadar titik akhir replikasi (lihat rumus yang diberikan dalam *Uji Konfirmasi Kepekaan Pereaksi LAL*, yang dijelaskan dalam *Uji Persiapan untuk Cara Jendal Gel*). Jika pengujian dilakukan dengan mengencerkan larutan sampel, hitung kadar endotoksin dalam sampel awal dengan mengalikannya dengan faktor pengenceran. Jika tidak ada pengenceran sampel yang positif dalam pengujian absah, laporkan kadar endotoksin kurang dari  $\lambda$  (jika enceran sampel yang diuji kurang dari  $\lambda$  dikalikan faktor pengenceran terkecil dari sampel). Jika semua pengenceran positif, kadar endotoksin dilaporkan sama atau lebih besar dari faktor pengenceran terbesar dikalikan  $\lambda$ . (Misalnya: Faktor pengenceran awal 8 kali  $\lambda$  pada Tabel 3).

Bahan memenuhi syarat jika kadar endotoksin kurang dari nilai yang dinyatakan dalam masing-masing monografi.

## CARA FOTOMETRIK

Metode turbidimetri mengukur peningkatan kekeruhan. Berdasarkan prinsip pengujian yang digunakan, teknik ini diklasifikasikan menjadi turbidimetri titik akhir dan turbidimetri kinetik. Cara turbidimetri titik akhir didasarkan pada hubungan kuantitatif antara kadar endotoksin dan kekeruhan (serapan atau transmisi) dari campuran reaksi pada akhir masa inkubasi. Cara turbidimetri kinetik dapat dilakukan dengan dua cara: mengukur waktu yang dibutuhkan untuk mencapai nilai serapan yang telah ditetapkan atau kecepatan pembentukan kekeruhan.

Metode kromogenik mengukur kromofor yang dilepaskan dari peptida kromogenik yang sesuai, yang dihasilkan dari reaksi antara endotoksin dengan pereaksi LAL. Berdasarkan prinsip pengujian yang digunakan, teknik ini diklasifikasikan sebagai teknik kromogenik titik akhir atau kromogenik kinetik. Cara kromogenik titik akhir didasarkan pada hubungan kuantitatif antara kadar endotoksin dan pelepasan kromofor pada akhir masa inkubasi. Cara kromogenik kinetik dapat dilakukan dengan mengukur waktu yang dibutuhkan untuk

mencapai nilai serapan yang telah ditentukan atau kecepatan pembentukan warna.

Seluruh pengujian fotometrik dilakukan pada suhu inkubasi yang direkomendasikan oleh produsen Pereaksi LAL, umumnya  $37^{\circ}\pm 1^{\circ}$ .

## Uji Persiapan Cara Fotometrik

Untuk menjamin presisi atau keabsahan dari cara turbidimetri dan kromogenik, dilakukan uji persiapan untuk memverifikasi kriteria kurva baku yang absah dan larutan sampel tidak menghambat atau memacu reaksi. Revalidasi metode pengujian diperlukan bila terjadi perubahan kondisi yang dapat berpengaruh terhadap hasil uji.

**Verifikasi Kriteria Kurva Baku** Dengan menggunakan larutan endotoksin baku, siapkan minimal 3 kadar endotoksin untuk membuat kurva baku. Lakukan pengujian menggunakan minimal 3 replikasi untuk masing-masing kadar endotoksin baku, sesuai instruksi produsen pereaksi LAL (perbandingan volume, waktu inkubasi, suhu, pH, dan lain-lain). Jika rentang yang diinginkan dalam metode kinetik lebih besar dari 2 log, maka harus dimasukkan larutan baku tambahan, agar setiap kenaikan log tetap berada dalam rentang kurva baku. Nilai absolut dari koefisien korelasi,  $|r|$ , harus lebih besar atau sama dengan 0,980 untuk rentang kadar endotoksin sebagaimana ditetapkan oleh produsen pereaksi LAL.

**Uji Faktor Pengganggu untuk Cara Fotometrik** Pilih satu kadar endotoksin pada atau di sekitar pertengahan kurva baku endotoksin. Siapkan larutan A, B, C dan D seperti tertera pada *Tabel 4*. Lakukan uji terhadap larutan A, B, C dan D minimal duplo sesuai instruksi untuk Pereaksi LAL yang digunakan (volume sampel dan pereaksi LAL, perbandingan volume sampel dengan pereaksi LAL, waktu inkubasi, dan lain-lain).

Rata-rata perolehan kembali endotoksin yang ditambahkan adalah kadar endotoksin total dalam larutan dikurangi kadar endotoksin dalam larutan semula (jika ada). Agar dapat dinyatakan bebas dari faktor pengganggu pada kondisi pengujian, hasil pengukuran kadar endotoksin yang ditambahkan pada sampel harus berada diantara 50-200% dari kadar endotoksin yang ditambahkan.

Bila perolehan kembali endotoksin berada di luar rentang yang ditetapkan maka faktor pengganggu harus dihilangkan dengan melakukan *Uji Faktor Pengganggu untuk Cara Jendal Gel* sebagaimana yang dijelaskan dalam *Uji Persiapan Cara Jendal Gel*. Ulangi *Uji Faktor Pengganggu untuk Cara Jendal Gel* untuk memvalidasi perlakuan.

### Prosedur Cara Fotometrik

Lakukan prosedur seperti tertera pada *Uji Faktor Pengganggu untuk Cara Fotometrik dalam Uji Persiapan Cara Fotometrik*.

#### Perhitungan Untuk Cara Fotometrik

Hitung kadar endotoksin dari tiap-tiap replikasi larutan uji A, menggunakan kurva baku yang dibuat dengan kontrol positif larutan C. Uji dinyatakan absah jika kondisi berikut dipenuhi: (1) Hasil kontrol positif larutan C memenuhi persyaratan validasi yang ditetapkan pada *Verifikasi Kriteria Kurva Baku dalam Uji Persiapan Cara Fotometrik*; (2) Perolehan kembali endotoksin, dihitung dari konsentrasi endotoksin larutan B setelah dikurangi konsentrasi endotoksin larutan A, berada pada rentang 50% – 200%; dan (3) Hasil kontrol negatif larutan D tidak melebihi batas nilai blangko yang dipersyaratkan dalam uraian pereaksi LAL yang digunakan.

#### Penafsiran Hasil Cara Fotometrik

Pada penetapan kadar secara fotometrik, sediaan uji memenuhi syarat jika rata-rata kadar endotoksin dari replikasi larutan A, setelah koreksi pengenceran dan kadar, lebih kecil dari batas endotoksin produk.

**Tabel 4. Penyiapan Larutan untuk Uji Penghambatan/Pemacuan Cara Fotometrik**

Larutan	Kadar endotoksin	Larutan yang ditambah endotoksin	Jumlah replika
A <sup>a</sup>	0	Larutan sampel	Tidak kurang dari 2
B <sup>b</sup>	kadar tengah pada kurva baku	Larutan sampel	Tidak kurang dari 2
C <sup>c</sup>	Minimal 3 kadar (kadar terendah sama dengan $\lambda$ )	Air Pereaksi LAL	Masing-masing tidak kurang dari 2
D <sup>d</sup>	0	Air Pereaksi LAL	Tidak kurang dari 2

<sup>a</sup> Larutan A : Larutan sampel, dapat diencerkan tidak lebih dari PMA

<sup>b</sup> Larutan B : Sediaan uji dengan pengenceran yang sama dengan Larutan A mengandung endotoksin yang ditambahkan sehingga kadar yang sama dengan/mendekati kadar tengah kurva baku.

<sup>c</sup> Larutan C : Larutan baku Endotoksin baku dengan kadar sebagaimana yang digunakan dalam validasi metode seperti tertera pada *Verifikasi Kriteria Kurva Baku dalam Uji Persiapan untuk Cara Fotometrik* (seri kontrol positif).

<sup>d</sup> Larutan D : Air Pereaksi LAL (kontrol negatif).

#### UJI HEMOLISIS <211>

Tambahkan 1 bagian volume serum donor segar ke dalam 1 bagian volume suspensi sel A<sub>1</sub> 10% dalam larutan *natrium klorida P* 0,9% dan tambahkan 1 bagian volume kedalam 1 bagian volume suspensi sel B yang serupa; pengujian serupa dilakukan menggunakan sel O sebagai kontrol negatif. Jika umur serum lebih dari

24 jam, tambahkan 1 bagian volume serum golongan O segar bebas lisin ke dalam tiap tabung sebagai sumber komplemen. Campur isi tiap tabung, inkubasi pada suhu 37° selama 1 jam dan amati hemolisis dalam beningan.

Terhadap serum yang memberikan reaksi positif dalam uji tersebut lakukan pengujian lebih lanjut sebagai berikut:

Encerkan 1 bagian volume serum dengan 3 bagian volume larutan *natrium klorida P* 0,9% dan campur 1 bagian volume serum encer dengan 1 bagian volume serum golongan O segar bebas lisin dan 1 bagian volume suspensi sel A<sub>1</sub> atau sel B 10% dalam larutan *natrium klorida P* 0,9% (yang mengalami lisis pada uji sebelumnya). Pada waktu yang bersamaan, dalam 2 tabung lain, campur 1 bagian volume larutan *natrium klorida P* 0,9% dengan 1 bagian volume serum golongan O secara segar bebas lisin. Ke dalam salah satu tabung ini tambahkan 1 bagian volume suspensi sel A<sub>1</sub>, 10% dalam larutan *natrium klorida P* 0,9% dan ke dalam tabung lainnya 1 bagian volume suspensi sel B 10% dalam larutan *natrium klorida P* 0,9%. Inkubasi semua tabung pada suhu 37° selama 1 jam, campur isi masing-masing tabung dan amati hemolisis dalam beningan. Tidak terbentuk hemolisis dalam tiap tabung.

#### UJI HISTAMIN <221>

Bunuh marmut dengan bobot tubuh 250 g hingga 350 g yang telah dipuaskan selama 24 jam. Potong usus halus bagian distal sepanjang 2 cm dan kosongkan dengan membilas hati-hati dengan *Larutan B* menggunakan alat suntik. Ikat dengan benang halus kedua ujungnya dan buat potongan melintang kecil pada bagian tengah potongan usus halus. Letakkan dalam bejana organ dengan kapasitas 10 ml hingga 20 ml berisi *Larutan B*, yang dipertahankan pada suhu tetap (34° - 36°) dan larutan dialiri udara atau campuran *oksigen P - karbon dioksida P* (95:5). Ikatkan salah satu benang dekat pada dasar bejana organ. Ikatkan benang yang lain pada miograf isotonik dan rekam kontraksi organ pada kimograf atau alat lain yang sesuai yang dapat memberikan rekaman permanen. Jika digunakan pengungkit, panjangnya harus sedemikian rupa sehingga gerakan organ diperkuat lebih kurang 20 kali. Tegangan usus halus sebaiknya 9,8 mN dan disesuaikan dengan kepekaan organ. Bilas bejana organ dengan *Larutan B*. Biarkan selama 10 menit. Bilas dua atau tiga kali lagi dengan *Larutan B*. Tambahkan 0,2 ml hingga 0,5 ml larutan *histamin dihidroklorida P* yang diukur tepat, yang menimbulkan respons submaksimal yang reproduibel. Dosis ini dinyatakan sebagai "dosis tinggi". Bilas bejana organ (sebaiknya dengan air yang berlebih tanpa mengosongkan bejana), tiga kali dengan *Larutan B* sebelum setiap penambahan histamin. Penambahan berurutan dibuat dengan interval waktu yang teratur sedemikian, sehingga terjadi relaksasi sempurna di antara dua penambahan (lebih kurang 2 menit). Tambahkan volume yang sama larutan *histamin dihidroklorida P* dengan kadar lebih rendah yang menimbulkan respons yang reproduibel lebih kurang setengah dari respons dosis tinggi. Dosis ini dinyatakan

sebagai "dosis rendah". Lanjutkan penambahan secara teratur larutan histamin "dosis tinggi" dan "dosis rendah" dengan cara tersebut di atas, bergantian dengan enceran larutan uji dengan volume yang sama, sesuaikan kadar enceran larutan uji sedemikian sehingga menimbulkan kontraksi usus halus, jika ada lebih kecil dari respons yang disebabkan oleh histamin dosis tinggi. Tetapkan apakah terjadi kontraksi, jika ada, reproduksibel dan apakah respons kontraksi terhadap histamin "dosis tinggi" dan "dosis rendah" yang diberikan berikutnya tidak berubah. Hitung aktivitas zat uji dan nyatakan ekuivalensinya dalam mikrogram histamin basa dari pengenceran yang ditetapkan di atas. Jumlah yang diperoleh tidak melebihi jumlah yang tertera pada monografi.

Jika zat uji tidak menimbulkan kontraksi, buat larutan segar dengan penambahan histamin sesuai dengan jumlah maksimum yang dapat ditoleransi dalam monografi dan catat apakah kontraksi yang dihasilkan oleh sediaan dengan penambahan histamin sesuai dengan jumlah histamin yang ditambahkan. Jika tidak, atau jika kontraksi yang disebabkan zat uji tidak reproduksibel, atau jika respons berikutnya terhadap histamin "dosis tinggi" dan "dosis rendah" berkurang, hasil uji dinyatakan tidak absah dan laku-kan *Uji Daya Hipotensif* <191>.

#### Larutan A

<i>Natrium klorida P</i>	160 g
<i>Kalium klorida P</i>	4,0 g
<i>Kalsium klorida anhidrat P</i>	2,0 g
<i>Magnesium klorida anhidrat</i>	1,0 g
<i>Natrium fosfat dibasa P</i>	50 mg
<i>Air untuk injeksi P hingga</i>	1000 ml

#### Larutan B

<i>Larutan A</i>	50 ml
<i>Atropin sulfat P</i>	0,5 ml
<i>Natrium bikarbonat P</i>	1,0 g
<i>D-Glukosa P</i>	0,5 g
<i>Air untuk injeksi P</i>	950 ml

*Larutan B* harus dibuat segar dan digunakan dalam waktu 24 jam.

#### UJI PIROGEN <231>

Uji pirogen dimaksudkan untuk membatasi risiko reaksi demam pada tingkat yang dapat diterima oleh pasien pada pemberian sediaan injeksi. Pengujian meliputi pengukuran kenaikan suhu kelinci setelah penyuntikan sediaan uji secara intravena dan ditujukan untuk sediaan yang dapat ditoleransi oleh kelinci percobaan pada dosis tidak lebih dari 10 ml per kg yang disuntikkan secara intravena dalam periode tidak lebih dari 10 menit. Untuk sediaan yang memerlukan penyiapan pendahuluan atau cara pemberian khusus, ikuti petunjuk tambahan yang diberikan pada masing-masing monografi atau, dalam hal

antibiotik atau sediaan biologi petunjuk tambahan diberikan dalam ketentuan lain.

#### ALAT DAN PENGECER

Alat suntik, jarum dan alat gelas dibebaskan dari pirogen dengan pemanasan pada 250° selama tidak kurang dari 30 menit atau dengan metode lain yang sesuai. Perlakukan semua pengencer dan larutan untuk mencuci dan membilas peralatan atau alat suntik parenteral sedemikian rupa yang dapat menjamin alat tersebut steril dan bebas pirogen. Lakukan uji pirogen pada pengencer dan larutan untuk mencuci atau pembilas alat secara berkala. Bila digunakan Injeksi Natrium Klorida sebagai pengencer, gunakan larutan yang mengandung natrium klorida 0,9%.

#### REKAMAN SUHU

Gunakan alat pendeteksi suhu yang teliti seperti thermometer klinik atau alat termistor atau alat sejenis yang telah dikalibrasi untuk menjamin ketelitian  $\pm 0,1^\circ$  dan telah diuji untuk penetapan bahwa pembacaan maksimum dapat dicapai kurang dari 5 menit. Masukkan alat pendeteksi suhu ke dalam rektum kelinci uji dengan kedalaman tidak kurang dari 7,5 cm dan setelah periode waktu tidak kurang dari yang ditetapkan sebelumnya, catat suhu tubuh kelinci.

#### HEWAN UJI

Gunakan kelinci dewasa yang sehat. Tempatkan kelinci satu ekor dalam satu kandang dalam ruangan dengan suhu yang seragam antara 20° - 23° dan bebas dari gangguan yang menimbulkan kegelisahan. Perbedaan suhu tidak lebih dari  $\pm 3^\circ$  dari suhu yang ditetapkan. Kelinci yang belum pernah digunakan untuk uji pirogen, adaptasikan kelinci tidak lebih dari tujuh hari dengan uji pendahuluan yang meliputi semua tahap yang tertera pada *Prosedur*, kecuali penyuntikan. Kelinci tidak boleh digunakan untuk uji pirogen lebih dari sekali dalam waktu 48 jam, atau sebelum 2 minggu untuk uji pirogen yang menunjukkan kenaikan suhu 0,6° atau lebih, atau telah digunakan untuk uji sediaan yang dinyatakan pirogenik.

#### PROSEDUR

Lakukan uji dalam ruang terpisah yang dirancang untuk pengujian pirogen dan pada kondisi lingkungan yang sama dengan ruang pemeliharaan hewan dan bebas dari gangguan yang menimbulkan kegelisahan. Kelinci tidak diberi makan selama pengujian. Boleh diberi minum setiap saat, tetapi terbatas. Jika termistor pengukur suhu rektum digunakan untuk pengujian, kelinci diletakkan dalam penyekap yang dapat menahan kelinci dengan leher yang longgar sehingga dapat duduk dengan bebas. Tetapkan suhu kontrol dari tiap kelinci tidak lebih dari 30 menit sebelum penyuntikan larutan uji. Suhu tersebut digunakan sebagai awal untuk penetapan setiap kenaikan suhu yang dihasilkan dari penyuntikan larutan uji. Dalam setiap kelompok kelinci uji, gunakan kelinci yang



mempunyai perbedaan suhu kontrol antara satu dengan lainnya tidak lebih dari 1°, dan suhu kontrol setiap kelinci tidak boleh lebih dari 39,8°. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, suntikkan 10 ml larutan uji per kg berat badan kedalam vena telinga setiap tiga kelinci, lakukan penyuntikan dalam waktu 10 menit. Larutan uji berupa sediaan yang perlu dikonstruksi sesuai etiket, atau bahan uji yang diperlakukan seperti tertera pada masing-masing monografi dan disuntikkan sesuai dosis tersebut. Untuk uji pirogen dari alat atau perangkat injeksi, gunakan cucian atau bilasan permukaan yang kontak dengan bahan yang diberikan secara parenteral, tempat penyuntikan atau jaringan tubuh pasien. Semua larutan uji harus terjamin bebas kontaminasi. Lakukan penyuntikan setelah larutan uji dihangatkan pada suhu 37°±2°. Rekam suhu berturut-turut antara jam ke-1 dan ke-3 setelah penyuntikan dengan selang waktu 30 menit.

#### INTERPRETASI HASIL DAN LANJUTAN

Setiap penurunan suhu dianggap nol. Sediaan memenuhi syarat apabila tidak ada satupun kelinci yang menunjukkan kenaikan suhu 0,5° atau lebih. Bila ada kelinci yang menunjukkan kenaikan suhu 0,5° atau lebih, lanjutkan uji menggunakan lima ekor kelinci lain. Sediaan memenuhi syarat bebas pirogen bila tidak lebih dari 3 dari 8 ekor masing-masing menunjukkan kenaikan suhu 0,5° atau lebih dan jumlah kenaikan suhu maksimum 8 kelinci tidak melebihi 3,3°.

#### UJI REAKTIVITAS BIOLOGI SECARA IN-VITRO <241>

Uji berikut dirancang untuk menentukan reaktivitas biologik biakan sel mamalia setelah kontak dengan plastik elastomer dan bahan polimer lain yang kontak dengan penderita secara langsung atau tidak langsung, atau dengan ekstrak khusus yang dibuat dari bahan uji. Hal yang penting adalah menyediakan luas permukaan spesifik untuk ekstraksi. Jika luas permukaan spesimen tidak dapat ditentukan, gunakan 0,1 g elastomer atau 0,2 g plastik atau bahan lain untuk setiap ml cairan ekstraksi. Juga penting berhati-hati dalam penyediaan bahan-bahan tersebut untuk menghindari kontaminasi mikroba dan zat asing lain.

Tiga uji diuraikan di bawah ini: *Uji Difusi Agar*, *Uji Kontak Langsung*, dan *Uji Evaluasi*. Keputusan jenis uji atau jumlah uji yang dilakukan untuk menilai respons biologik potensial sampel atau ekstrak khusus tergantung dari bahan, produk akhir dan tujuan penggunaan. Faktor lain yang mungkin juga mempengaruhi kesesuaian sampel untuk suatu penggunaan khusus adalah komposisi polimer; prosedur pembuatan dan pembersihan; media kontak; tinta; perekat; absorpsi, adsorpsi dan permeabilitas pengawet; dan kondisi penyimpanan. Evaluasi terhadap faktor tersebut harus dilakukan dengan berbagai uji khusus tambahan sebelum menentukan

bahwa produk yang dibuat dari suatu bahan khusus tepat untuk tujuan penggunaannya.

#### **Baku pembanding *Bioreaksi Negatif BPF1; Bioreaksi Positif Padat BPF1; Ekstrak Bioreaksi Positif BPF1.***

*Penyiapan Biakan Sel* Buat biakan ganda sel fibroblas mamalia L-929 (ATCC cell line CCL1, NCTC klon 929) dalam media esensial minimum yang ditambah serum dan mempunyai kerapatan benih lebih kurang 10<sup>5</sup> sel per ml. Inkubasi biakan pada suhu 37°±1° selama tidak kurang dari 24 jam dalam atmosfer karbon dioksida 5%±1%, sampai diperoleh lapisan tunggal sel dan kompak lebih dari 80%. Periksa di bawah mikroskop untuk memastikan biakan merupakan lapisan tunggal seragam dan hampir kompak. [*Catatan Reprodusibilitas Uji Reaktivitas secara Biologi in-vitro tergantung pada kerapatan biakan sel yang seragam.*]

*Pelarut ekstraksi* Injeksi natrium klorida seperti tertera pada *Injeksi Natrium Klorida* mengandung natrium klorida 0,9%. Sebagai pengganti, dapat digunakan media biakan sel mamalia bebas serum atau media biakan sel mamalia yang ditambahkan serum. Penambahan serum digunakan bila ekstraksi dilakukan pada suhu 37° selama 24 jam.

#### **Alat**

*Otoklaf* Gunakan otoklaf yang dapat mempertahankan suhu 121°±2°, dilengkapi dengan termometer, pengukur tekanan, lubang ventilasi, rak yang cukup untuk menampung wadah uji di atas permukaan air dan sistem pendingin air yang akan mendinginkan wadah uji sampai suhu lebih kurang 20°, tetapi tidak di bawah suhu 20°, segera setelah siklus pemanasan.

*Oven* Gunakan oven, sebaiknya model konveksi mekanik yang akan mempertahankan rentang suhu kerja 50° - 70° dalam kisaran lebih kurang 2°.

*Inkubator* Gunakan inkubator yang dapat mempertahankan suhu 37°±1° dan atmosfer karbon dioksida dalam udara 5%±1%. [*Catatan Bila digunakan tabung biakan tertutup, atmosfer karbon dioksida dalam inkubator tidak diperlukan.*]

*Wadah untuk ekstraksi* Gunakan hanya wadah seperti ampul atau tabung biakan tertutup ulir, atau yang setara, yang dibuat dari kaca Tipe I. Bila digunakan tabung biakan, atau yang setara, tertutup ulir berlapis elastometer yang sesuai, seluruh permukaan lapisan elastometer yang terpapar dilindungi dengan cakram padat inert setebal 0,05 mm hingga 0,075 mm. Cakram yang sesuai dapat dibuat dari politetrafluoroetilen (politef).

*Penyiapan alat* Bersihkan semua alat gelas dengan campuran pembersih asam kromat, bila perlu dengan asam nitrat panas, kemudian dibilas dengan air untuk injeksi P. Sterilkan wadah dan alat yang digunakan untuk ekstraksi, pemindahan, atau pemberian bahan uji dan keringkan dengan cara yang sesuai. Bila etilen oksida digunakan untuk sterilisasi, biarkan tidak kurang dari 48 jam untuk pengawaudaraan yang sempurna.

**Prosedur**

*Penyiapan sampel untuk ekstrak* Lakukan prosedur seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi, in-vivo* <251>.

*Penyiapan ekstrak* Lakukan penyiapan ekstrak seperti tertera pada *Penyiapan ekstrak* dalam *Uji Reaktivitas secara Biologi in-vivo* <251>, menggunakan larutan *Injeksi Natrium Klorida* (natrium klorida 0,9%) atau media biakan sel mamalia bebas serum sebagai *Pelarut ekstraksi*. [Catatan Bila ekstraksi dilakukan pada suhu 37° selama 24 jam, dalam inkubator, gunakan media biakan sel yang ditambah serum. Kondisi ekstraksi tidak boleh menyebabkan perubahan fisik seperti fusi atau pelelehan potongan bahan kecuali sedikit perlekatan.]

**Uji Difusi Agar**

Uji ini dirancang untuk tutup elastomer dalam berbagai bentuk. Lapisan agar berlaku sebagai bantalan untuk melindungi sel dari kerusakan mekanis dan sebagai sarana difusi bagi bahan kimia yang dapat terlepas dari spesimen polimer. Ekstrak bahan uji diletakkan di atas selembar kertas saring .

*Sampel* Gunakan ekstrak yang telah dibuat seperti yang telah disebut atau gunakan bagian dari spesimen uji yang mempunyai permukaan datar dengan luas permukaan tidak kurang dari 100 mm<sup>2</sup>.

*Prosedur* Menggunakan 7 ml suspensi sel yang dibuat seperti tertera pada *Penyiapan biakan sel*, buat lapisan tunggal biakan sel pada lempeng berdiameter 60 mm. Setelah inkubasi, buang media biakan dari lapisan tunggal dengan pipet, dan sebagai ganti dengan media biakan yang ditambah serum dan mengandung agar P tidak lebih dari 2%. [Catatan Mutu agar harus cukup baik untuk menunjang pertumbuhan sel. Lapisan agar harus cukup tipis sehingga bahan kimia yang terlepas dapat berdifusi.] Tempelkan permukaan datar *Sampel*, *Bioreaksi Negatif BPFi* (sebagai *Kontrol negatif*), dan *Ekstrak Bioreaksi Positif BPFi* atau *Bioreaksi Positif Padat BPFi* (sebagai *Kontrol positif*) dalam biakan rangkap dua pada permukaan agar yang telah memadat. Gunakan tidak lebih dari 3 spesimen per lempeng. Inkubasi semua biakan pada suhu 37°±1° selama tidak kurang 24 jam, sebaiknya dalam inkubator lembab yang mengandung karbon dioksida 5%±1%. Amati masing-masing biakan pada tiap *Sampel*, *Kontrol negatif* dan *Kontrol positif*, di bawah mikroskop, bila perlu dengan menggunakan pewarna sitokimia.

*Interpretasi hasil* Reaktivitas biologik (degenerasi dan malformasi sel) digambarkan dan diberi skala 0 - 4 (seperti tertera pada *Tabel 1*). Ukur respons yang diperoleh dari *Kontrol negatif* dan *Kontrol positif*. Sistem uji ini sesuai bila respons yang diamati sesuai dengan derajat reaktivitas biologik yang tertera pada penandaan baku pembandingan. Ukur respons yang diperoleh dari *Sampel*. *Sampel* memenuhi persyaratan uji bila tidak satupun biakan sel yang terpapar terhadap *Sampel* menunjukkan reaktivitas lebih besar dari reaktivitas ringan (Tingkat 2). Ulangi uji ini bila tidak ada kesesuaian sistem.

**Uji Kontak Langsung**

Uji ini dirancang untuk bahan dalam berbagai bentuk. Prosedur memungkinkan ekstraksi bersamaan dan pengujian bahan kimia yang dapat lepas dari spesimen dengan media yang ditambah serum. Prosedur ini tidak sesuai untuk bahan dengan kerapatan sangat rendah atau sangat tinggi yang dapat menyebabkan kerusakan mekanis pada sel.

*Sampel* Gunakan bagian dari spesimen uji yang mempunyai permukaan datar dengan luas permukaan tidak kurang dari 100 mm<sup>2</sup>.

*Prosedur* Dengan menggunakan 2 ml suspensi sel yang dibuat seperti tertera pada *Penyiapan biakan sel*, buat lapisan tunggal biakan sel pada lempeng berdiameter 35 mm. Setelah inkubasi, buang media biakan dengan pipet, dan ganti dengan 0,8 ml media biakan segar. Tempatkan *Sampel* tunggal, *Bioreaksi Negatif BPFi* (sebagai *Kontrol negatif*), dan *Ekstrak Bioreaksi Positif BPFi* atau *Bioreaksi Positif Padat BPFi* (sebagai *Kontrol positif*) pada masing-masing biakan rangkap dua. Inkubasi semua biakan pada suhu 37°±1° selama tidak kurang 24 jam, sebaiknya dalam inkubator lembab yang mengandung karbon dioksida 5%±1%. Amati setiap biakan pada tiap *Sampel*, *Kontrol negatif*, dan *Kontrol positif* secara visual atau dengan mikroskop bila perlu dengan menggunakan pewarna sitokimia.

*Interpretasi hasil* Lakukan sesuai tertera pada *Interpretasi hasil* pada *Uji Difusi Agar*. *Sampel* memenuhi persyaratan uji bila tidak satupun biakan sel yang terpapar terhadap *Sampel* menunjukkan reaktivitas lebih besar dari reaktivitas ringan (Tingkat 2). Ulangi uji ini bila tidak ada kesesuaian sistem.

**Tabel 1 Tingkatan Reaktivitas untuk Uji Difusi Agar dan Uji Kontak Langsung**

Tingkat	Reaktivitas	Pemerian Daerah Reaktivitas
0	Tidak ada	Tidak ditemukan daerah reaktivitas sekitar dan di bawah spesimen
1	Sedikit	Beberapa sel dengan malformasi dan degenerasi di bawah spesimen
2	Ringan	Daerah reaktivitas terbatas pada daerah di bawah spesimen
3	Sedang	Daerah reaktivitas meluas 0,5- 1,0 cm di luar spesimen
4	Berat	Daerah reaktivitas meluas lebih dari 1,0 cm di luar spesimen tetapi tidak sampai seluruh cawan.

**Uji Eluasi**

Uji ini dirancang untuk mengevaluasi ekstrak bahan polimer. Prosedur memungkinkan ekstraksi spesimen pada suhu fisiologik atau nonfisiologik untuk berbagai

interval waktu. Uji ini sesuai untuk bahan dengan kerapatan tinggi dan untuk evaluasi dosis-respons.

*Sampel* Lakukan seperti tertera pada *Penyiapan ekstrak*, menggunakan *Injeksi Natrium Klorida* (natrium klorida 0,9%) atau media biakan sel mamalia bebas serum sebagai *Pelarut ekstraksi*. Bila *Sampel* tidak dapat dengan mudah diukur, dapat digunakan tidak kurang dari 0,1 g bahan elastomer atau 0,2 g plastik atau bahan polimer per ml media ekstraksi. Sebagai cara lain, gunakan media biakan sel mamalia yang ditambah serum sebagai media ekstraksi untuk lebih mendekati kondisi fisiologis. Buat ekstrak dengan memanaskan selama 24 jam dalam inkubator yang sebaiknya mengandung karbon dioksida 5%±1%. Pertahankan suhu ekstraksi pada 37°±1°, karena suhu yang lebih tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein serum.

*Prosedur* Dengan menggunakan 2 ml suspensi sel yang dibuat seperti tertera pada *Penyiapan biakan sel*, buat lapisan tunggal biakan sel pada lempeng berdiameter 35 mm. Setelah inkubasi, buang media biakan dari lapisan tunggal dengan pipet, dan ganti dengan ekstrak *Sampel*, *Bioreaksi Negatif BPF1* (sebagai *Kontrol negatif*) dan *Ekstrak Bioreaksi Positif BPF1*. Ekstrak yang dibuat dengan media biakan sel yang bebas serum maupun yang ditambah serum diuji rangkap dua tanpa pengenceran (100%). Ekstrak larutan injeksi natrium klorida diencerkan dengan media biakan sel yang ditambah serum dan diuji rangkap dua pada kadar ekstrak 25%. Inkubasi semua biakan pada suhu 37°±1° selama 48 jam, dalam inkubator yang sebaiknya mengandung karbon dioksida 5%±1%. Periksa setiap biakan pada 48 jam di bawah mikroskop jika perlu menggunakan pewarna sitokimia.

*Interpretasi hasil* Lakukan sesuai yang tertera pada *Interpretasi hasil* pada *Uji Difusi Agar* tetapi gunakan *tabel 2*. Ulangi uji ini bila tidak ada kesesuaian sistem. *Sampel* memenuhi persyaratan uji bila biakan yang diperlakukan dengan *Sampel* menunjukkan reaktivitas tidak lebih besar dari reaktivitas ringan (Tingkat 2). Bila biakan yang diperlakukan dengan *Sampel* menunjukkan reaktivitas yang lebih besar secara bermakna dibandingkan biakan yang diberi *Kontrol negatif*, ulangi uji dengan berbagai pengenceran ekstrak secara kuantitatif.

**Tabel 2 Tingkatan Reaktivitas untuk Uji Elusi**

Tingkat	Reaktivitas	Kondisi Semua Biakan
0	Tidak ada	Granul intrasitoplasmik yang terpisah; tidak ada lisis sel.
1	Sedikit	Tidak lebih dari 20% sel bulat, hampir lepas dan tanpa granul intrasitoplasmik; kadang-kadang ada sel lisis
2	Ringan	Tidak lebih dari 50% sel bulat dan tanpa granul intrasitoplasmik; banyak sel lisis dan daerah kosong di antara sel.
3	Sedang	Tidak lebih dari 70% lapisan sel mengandung sel bulat dan/atau lisis.

4	Berat	Kerusakan lapisan sel hampir menyeluruh.
---	-------	--

## UJI REAKTIVITAS BIOLOGI SECARA IN-VIVO <251>

Uji berikut dirancang untuk menentukan respons biologik hewan terhadap elastomer, plastik dan bahan polimer lain yang kontak dengan penderita secara langsung atau tidak langsung, atau dengan penyuntikan ekstrak khusus yang dibuat dari bahan uji. Hal yang penting yaitu menyediakan daerah permukaan spesifik untuk ekstraksi. Jika daerah permukaan spesimen tidak dapat ditentukan, gunakan 100 mg elastomer atau 200 mg plastik atau bahan lain untuk setiap ml cairan ekstraksi. Juga penting berhati-hati dalam penyediaan bahan-bahan yang akan disuntikkan atau dimasukkan guna menghindari kontaminasi mikroba dan zat asing lain.

Tiga uji diuraikan di bawah ini. *Uji Injeksi Sistemik* dan *Uji Intrakutan* digunakan untuk bahan elastomer, terutama untuk tutup elastomer dengan *Uji Reaktivitas secara Biologi in-vitro <241>* yang sesuai telah menunjukkan reaktivitas biologi yang bermakna. Kedua uji ini digunakan untuk plastik dan polimer lain di samping uji ketiga, *Uji Implantasi*, yaitu untuk menguji kesesuaian bahan yang dimaksudkan untuk penggunaan dalam pembuatan wadah dan kelengkapannya, pada penggunaan dalam sediaan parenteral, alat kesehatan, implan, dan sistem lain. Ketiga uji ini digunakan untuk bahan atau alat kesehatan, jika diperlukan untuk klasifikasi plastik dan polimer lain berdasarkan pada *Uji Reaktivitas Biologi in-vivo*.

Dalam bab ini berlaku definisi berikut: *Sampel* adalah spesimen yang diuji atau ekstrak yang dibuat dari spesimen tersebut. *Blangko* terdiri dari media ekstraksi yang sama dalam jumlah yang sama dengan yang digunakan untuk mengekstraksi spesimen yang diuji, yang diperlakukan dengan cara yang sama seperti media ekstraksi yang mengandung spesimen uji. *Kontrol Negatif* adalah spesimen yang tidak memberikan reaksi pada kondisi uji.

**Klasifikasi Plastik** Plastik diklasifikasikan menjadi enam kelas seperti tertera pada *Tabel 1*. Klasifikasi berdasarkan respons terhadap serangkaian uji *in-vivo* yang ditetapkan untuk berbagai ekstrak, bahan dan cara pemberian. Uji ini berhubungan langsung dengan penggunaan akhir wadah plastik. Cairan ekstrak yang dipilih mewakili pembawa dalam sediaan yang akan kontak dengan plastik tersebut. Klasifikasi dalam *Tabel 1* memberikan informasi untuk pemasok, pemakai dan pabrik plastik, berupa ringkasan uji yang ditentukan oleh FI untuk wadah injeksi dan alat kesehatan.

Kecuali untuk *Uji Implantasi*, prosedur berdasarkan penggunaan ekstrak yang tergantung pada daya tahan bahan terhadap panas, dilakukan pada salah satu dari 3 suhu yaitu 50°, 70°, dan 121°. Oleh karena itu penandaan kelas plastik harus disertai dengan suhu

ekstraksinya; misalnya IV - 121°, yang menunjukkan plastik kelas IV yang diekstraksi pada suhu 121°, atau I - 50°, yang menunjukkan plastik kelas I yang diekstraksi pada suhu 50°. Plastik dapat diklasifikasi sebagai *Plastik BPF1 Kelas I - Kelas VI* apabila didasarkan pada kriteria respons yang ditentukan dalam *Tabel 1*.

Klasifikasi tidak berlaku untuk plastik yang dimaksudkan untuk wadah sediaan oral atau topikal, atau yang mungkin digunakan sebagai bagian dari formulasi obat. *Tabel 1* tidak berlaku untuk elastomer alamiah yang harus diuji dalam *Injeksi Natrium Klorida* dan *Minyak Nabati* saja.

*Uji Injeksi Sistemik* dan *Uji Intrakutan* masing-masing dirancang untuk menentukan respons biologik sistemik dan lokal hewan terhadap plastik dan polimer lain dengan penyuntikan dosis tunggal ekstrak khusus yang disiapkan dari *Sampel Uji Implantasi* dirancang untuk menilai reaksi jaringan hidup terhadap plastik dan polimer lain dengan implantasi *Sampel* ke dalam jaringan hewan. Persiapan yang tepat dan penempatan spesimen secara aseptik penting dalam melaksanakan *Uji Implantasi*.

Semua uji dirancang untuk plastik dan polimer lain dalam kondisi penggunaannya masing-masing. Bila bahan akan mengalami proses pencucian atau sterilisasi sebelum penggunaan akhir, maka uji harus dilakukan pada *Sampel* yang dibuat dari spesimen yang telah mengalami proses sama.

Faktor seperti komposisi bahan, prosedur pembuatan dan pembersihan, media kontak, tinta, perekat, adsorpsi, adsorpsi dan permeabilitas pengawet serta kondisi penyimpanan mungkin juga mempengaruhi kesesuaian suatu bahan untuk penggunaan tertentu. Evaluasi

terhadap faktor tersebut dilakukan dengan berbagai uji khusus tambahan yang sesuai sebelum menentukan kesesuaian bahan untuk tujuan penggunaannya.

**Media Ekstraksi** Injeksi Natrium Klorida seperti tertera pada monografi. Gunakan *Injeksi natrium klorida P 0,9%*.

*Larutan Etanol P 1* dalam 20 pada larutan *Injeksi Natrium Klorida*.

*Polietilen Glikol 400 P*

*Minyak Nabati* Gunakan Oleum Sesami yang baru dimurnikan, Oleum Lini atau minyak nabati lain yang sesuai.

*Pembawa sediaan obat*. (Jika perlu).

*Air untuk injeksi P*.

[*Catatan Oleum Sesami, Oleum Lini atau minyak nabati lain yang sesuai memenuhi persyaratan tambahan berikut: Siapkan bahan bila mungkin minyak yang baru dimurnikan. Suntik secara intrakutan tiga ekor kelinci yang telah disiapkan dengan minyak tersebut dengan dosis 0,2 ml pada masing-masing 10 tempat per hewan, dan amati pada 24 jam, 48 jam, dan 72 jam setelah suntikan. Berikan skor penilaian seperti tertera pada Tabel 5 di setiap tempat suntikan. Untuk 3 ekor kelinci (30 tempat suntikan), pada setiap waktu pengamatan, respons rata-rata berupa eritema tidak boleh lebih besar dari 0,5 dan berupa edema tidak lebih besar dari 1,0, dan tidak satu tempatpun yang memperlihatkan diameter reaksi jaringan lebih dari 10 mm, residu minyak di tempat penyuntikan tidak boleh disalah-artikan sebagai edema. Jaringan yang mengalami edema akan memutih bila ditekan pelan-pelan.*]

**Tabel 1 Klasifikasi Plastik**

Kelas Plastik <sup>a</sup>						Uji yang dilakukan			
I	II	III	IV	V	VI	Bahan uji	Hewan	Dosis	Prosedur <sup>b</sup>
X	X	X	X	X	X	Ekstrak sampel dalam <i>Injeksi Natrium Klorida</i>	Mencit	50 ml/kg	A (IV)
X	X	X	X	X	X		Kelinci	0,2 ml/ekor pada tiap 10 tempat penyuntikan	B
	X	X	X	X	X	Ekstrak sampel dalam <i>Larutan Etanol P</i> dalam <i>Larutan Injeksi Natrium Klorida</i> 1 dalam 20	Mencit	50 ml/kg	A (IV)
	X	X	X	X	X		Kelinci	0,2 ml/ekor pada tiap 10 tempat penyuntikan	B
		X		X	X	Ekstrak sampel dalam <i>Polietilen Glikol 400</i>	Mencit	10 ml/kg	A (IP)
				X	X		Kelinci	0,2 ml/ekor pada tiap 10 tempat penyuntikan	B
		X	X	X	X	Sampel dalam <i>Minyak Nabati</i>	Mencit	50 ml/kg	A (IP)
			X	X	X		Kelinci	0,2 ml/ekor pada tiap 10 tempat penyuntikan	B
			X		X	Sampel strip implan	Kelinci	4 strip/ekor	C

<sup>a</sup> Uji yang diperlukan untuk setiap kelas dinyatakan dengan tanda "x" dalam kolom yang tersedia

<sup>b</sup> Keterangan :A (ip) Uji Injeksi Sistemik (intraperitoneal);

A (iv) Uji Injeksi Sistemik (intravena);

B Uji Intrakutan;

C Uji Implantasi (implantasi intramuskular)

**Tabel 2 Penilaian Reaksi Kulit**

Eritema dan Pembentukan Eskar	Skor
Tidak ada eritema	0
Eritema sangat sedikit (hampir tidak terlihat)	1
Eritema jelas terlihat	2
Eritema sedang sampai berat	3
Eritema berat (merah tua) sampai pembentukan sedikit eskar (kerusakan yang lebih dalam)	4
Pembentukan Edema*	Skor
Tidak ada edema	0
Edema sangat sedikit (hampir tidak terlihat)	1
Edema sedikit (tepi area terlihat sedikit menonjol)	2
Edema sedang (menonjol kira-kira 1 mm)	3
Edema berat (menonjol lebih dari 1 mm dan lebih luas dari daerah paparan)	4

\* Tidak termasuk edema non inflamasi (mekanis) dari blangko atau cairan ekstraksi

**Alat**

**Otoklaf** Gunakan otoklaf yang dapat mempertahankan suhu  $121^{\circ} \pm 2,0^{\circ}$ , dilengkapi dengan termometer, pengukur tekanan, lubang ventilasi, rak yang cukup untuk menampung wadah uji di atas permukaan air dan sistem pendingin air yang akan mendinginkan wadah uji sampai suhu lebih kurang  $20^{\circ}$ , tetapi tidak di bawah suhu  $20^{\circ}$ , segera setelah siklus pemanasan.

**Oven** Gunakan oven, sebaiknya model konveksi mekanik yang akan mempertahankan rentang suhu kerja  $50^{\circ}$  hingga  $70^{\circ}$  dalam kisaran  $\pm 2^{\circ}$ .

**Wadah untuk ekstraksi** Gunakan hanya wadah seperti ampul atau tabung biakan bertutup ulir, yang terbuat dari kaca Tipe I. Bila digunakan tabung biakan, atau yang setara, bertutup ulir berlapis elastome yang sesuai, seluruh permukaan lapisan elastometer yang terpapar dilindungi dengan piringan padat netral setebal 0,05 mm

hingga 0,075 mm. Cakram yang sesuai dapat dibuat dari politetrafluoroetilen (politef).

**Penyiapan alat** Bersihkan semua alat gelas dengan campuran pembersih asam kromat, jika perlu dengan asam nitrat panas, kemudian dibilas dengan air. Bersihkan alat pemotong dengan cara yang sesuai (misalnya bersihkan berturut-turut dengan aseton dan metilen klorida) sebelum digunakan untuk membagi spesimen. Bersihkan alat-alat lain dengan menggosok menggunakan detergen yang sesuai dan bilas dengan air. Sterilkan wadah dan alat yang digunakan untuk ekstraksi, pemindahan, dan pemberian bahan uji kemudian keringkan dengan cara yang sesuai. [Catatan Bila digunakan etilen oksida untuk sterilisasi, diperlukan jangka waktu yang cukup untuk menghilangkan gas dengan sempurna.]

**Prosedur Penyiapan Sampel Uji Injeksi Sistemik dan Uji Intrakutan** dapat dilakukan dengan menggunakan ekstrak yang sama, atau dibuat ekstrak yang terpisah untuk masing-masing uji. Pilih dan bagi menjadi bagian-bagian Sampel dengan ukuran seperti tertera pada Tabel 2. Buang partikel seperti serat dan partikel bebas dengan memperlakukan setiap bagian Sampel atau Kontrol Negatif dengan cara sebagai berikut: Masukkan Sampel ke dalam labu tentukur 100-ml bertutup kaca yang terbuat dari kaca Tipe I, dan tambahkan lebih kurang 70 ml Air untuk injeksi P. Kocok selama lebih kurang 30 detik dan buang airnya, ulangi pencucian dan keringkan potongan sampel untuk ekstraksi dengan Minyak Nabati dalam oven pada suhu tidak lebih dari  $50^{\circ}$ . [Catatan Tidak boleh membersihkan Sampel dengan kain kering atau basah atau dengan membilas atau mencuci dengan pelarut organik, surfaktan, dsb.]

**Tabel 3 Luas Permukaan Spesimen yang Digunakan<sup>1\*</sup>**

Bentuk Bahan	Ketebalan	Jumlah Sampel untuk setiap 20 ml Media Ekstraksi	Dibagi menjadi
Film atau lembaran	< 0,5 mm	Setara dengan luas permukaan total 120 cm <sup>2</sup> (kedua sisi)	Strip kira-kira 5 x 0,3 cm
	0,5 – 1 mm	Setara dengan luas permukaan total 60 cm <sup>2</sup> (kedua sisi)	
Pipa/tabung	< 0,5 mm (dinding)	Panjang (dalam cm) = 120 cm <sup>2</sup> / (jumlah keliling diameter dalam dan diameter luar)	Potongan kira-kira 5 x 0,3 cm
	0,5 – 1 mm (dinding)	Panjang (dalam cm) = 60 cm <sup>2</sup> / (jumlah keliling diameter dalam dan diameter luar)	
Lempengan, pipa/tabung dan bahan cetakan	> 1 mm	Setara dengan luas permukaan total 60 cm <sup>2</sup> (semua permukaan yang terpapar)	Potongan sampai kira-kira 5 x 0,3 cm
Elastomer	> 1 mm	Setara dengan luas permukaan total 25 cm <sup>2</sup> (semua permukaan yang terpapar)	Tidak boleh dibagi <sup>2*</sup>

<sup>1\*</sup> Bila luas permukaan tidak dapat ditentukan karena konfigurasi spesimen, gunakan 0,1 g elastomer atau 0,2 g plastik atau polimer lain untuk setiap 1 ml cairan ekstraksi.

<sup>2\*</sup> Tutup elastomer cetakan diuji utuh.

Penyiapan ekstrak Masukkan Sampel uji yang telah disiapkan ke dalam wadah ekstraksi dan tambahkan 20 ml media ekstraksi yang sesuai. Ulangi cara ini untuk setiap media ekstraksi yang diperlukan untuk uji. Juga siapkan 20 ml blangko setiap media untuk penyuntikan paralel dan dengan cara yang sama sebagai pembanding. Ekstraksi dengan memanaskan dalam otoklaf pada suhu 121° selama 60 menit, dalam oven pada suhu 70° selama 24 jam, atau pada suhu 50° selama 72 jam. Biarkan cairan dalam wadah beberapa lama untuk mencapai suhu ekstraksi.

[Catatan Kondisi ekstraksi tidak boleh menyebabkan perubahan fisik seperti fusi atau lelehnya potongan Sampel, yang menyebabkan berkurangnya luas permukaan yang tersedia. Sedikit perlengketan antara potongan sampel dapat diterima. Masukkan potongan yang telah dibersihkan satu per satu ke dalam media. Bila digunakan tabung biakan bertutup ulir untuk ekstraksi dalam otoklaf dengan Minyak Nabati, tutup ulir harus cukup rapat dengan pita peka tekanan.]

Dinginkan sampai kira-kira suhu kamar tetapi tidak kurang dari 20°, kocok kuat selama beberapa menit dan segera enaptuankan setiap ekstrak secara aseptik ke dalam wadah kering dan steril. Simpan ekstrak pada suhu antara 20° dan 30°, dan jangan digunakan untuk uji setelah lebih dari 24 jam. Hal yang penting adalah kontak antara media ekstraksi dengan daerah permukaan plastik yang tersedia, waktu dan suhu selama ekstraksi, pendinginan yang semestinya, pengocokan dan proses enap tuang, dan penanganan aseptik serta penyiapan ekstrak setelah ekstraksi.

**Uji Injeksi Sistemik**

Uji ini dirancang untuk menilai respons sistemik terhadap ekstrak bahan uji setelah disuntikkan pada mencit.

**Hewan uji** Gunakan mencit putih sehat dan belum pernah digunakan sebelumnya, bobot tubuh antara 17 g dan 23 g. Untuk setiap kelompok uji gunakan mencit dari sumber yang sama. Air dan makanan yang biasa digunakan untuk hewan percobaan laboratorium dengan komposisi yang telah diketahui, diberikan secukupnya.

**Prosedur** [Catatan. Kocok kuat-kuat setiap ekstrak sebelum disuntikkan, untuk memastikan bahwa bahan yang terekstraksi terbagi rata. Akan tetapi, partikel yang terlihat tidak boleh disuntikkan secara intravena.] Suntik masing-masing 5 ekor mencit dari kelompok uji dengan Sampel atau Blangko seperti tertera pada Tabel 3, kecuali untuk setiap gram ekstrak Sampel yang dibuat dengan Polietilen Glikol 400 dan blangko, encerkan dengan 4,1 bagian volume Larutan Injeksi Natrium Klorida untuk memperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 200 mg polietilen glikol per ml.

Amati hewan uji segera setelah penyuntikan, setelah 4 jam, dan kemudian sekurang-kurangnya setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Bila selama masa observasi tidak satupun di antara hewan yang diberi ekstrak Sampel menunjukkan reaktivitas biologik yang lebih besar secara signifikan dibanding hewan yang memperoleh Blangko,

maka Sampel memenuhi persyaratan uji. Bila 2 ekor atau lebih mencit mati, atau bila terlihat perilaku abnormal seperti konvulsi atau prostasi pada 2 ekor mencit atau lebih, atau bila terjadi penurunan bobot tubuh lebih dari 2 g pada 3 ekor mencit atau lebih, maka Sampel tidak memenuhi persyaratan uji. Bila hewan yang diberi Sampel ada yang memperlihatkan sedikit tanda-tanda reaktivitas biologik dan tidak lebih dari 1 ekor hewan memperlihatkan gejala reaktivitas biologik yang nyata atau mati, ulangi uji dengan menggunakan kelompok yang terdiri dari 10 ekor mencit. Pada uji ulang, ke 10 ekor hewan yang diberi Sampel tidak boleh memperlihatkan reaktivitas biologik yang lebih besar secara signifikan dibanding hewan yang diberi Blangko selama periode pengamatan.

**Tabel 4 Prosedur Injeksi - Uji Injeksi Sistemik**

Ekstrak atau Blangko	Dosis per kg	Cara Pemberian*	Kecepat Injeksi µl/detil
Injeksi Natrium Klorida	50 ml	IV	100
Larutan I dalam 20 Etanol P dalam Injeksi Natrium Klorida	50 ml	IV	100
Polietilen Glikol 400	10 g	IP	-
Zat pembawa sediaan obat (bila perlu)	50 ml	IV	100
Minyak Nabati	50 ml	IP	-

\*IV = intravena (sampel dan blangko dalam pembawa air)  
IP = intraperitoneal (sampel dan blangko dalam pembawa minyak)

**Uji Intrakutan**

Uji ini dirancang untuk menilai respons lokal terhadap ekstrak bahan uji setelah penyuntikan intrakutan pada kulit kelinci.

**Hewan Uji** Pilih kelinci albino sehat dan berkulit tipis dan bulunya dapat dicukur pendek dan kulitnya bebas dari iritasi mekanis atau trauma. Dalam memperlakukan hewan uji, tempat penyuntikan jangan disentuh selama waktu pengamatan, kecuali untuk membedakan antara edema dan residu minyak ikan [Catatan Kelinci yang sebelumnya digunakan untuk uji yang tidak berhubungan, misalnya Uji Pirogen <231>, dan yang telah mendapat masa istirahat yang ditentukan, boleh digunakan untuk uji asal kulitnya bersih dan tidak cacat.]

**Prosedur** [Catatan Kocok kuat-kuat setiap ekstrak sebelum disuntikkan, untuk memastikan bahwa bahan yang terekstraksi terbagi rata.] Pada hari uji, cukur bulu bagian punggung hewan uji pada kedua sisi tulang belakang hingga diperoleh daerah uji yang cukup. Hindari iritasi mekanis dan trauma. Bersihkan rambut yang lepas dengan pompa hisap. Bila perlu seka kulit dengan etanol encer dan keringkan sebelum disuntik. Lebih dari satu ekstrak dari bahan tertentu dapat digunakan untuk tiap ekor kelinci, bila telah dipastikan bahwa hasil uji tidak akan dipengaruhi. Untuk setiap Sampel gunakan 2 ekor hewan dan suntik masing-masing hewan secara intrakutan

dengan menggunakan satu sisi hewan untuk *Sampel* dan sisi lainnya untuk *Blangko*, seperti tertera pada *Tabel 4*.

**Tabel 5 Uji Intrakutan**

Ekstrak atau Blangko	Jumlah tempat penyuntikan (per ekor)	Dosis, µl per tempat penyuntikan
Sampel	5	200
Blangko	5	200

[Catatan Encerkan setiap gram ekstrak *Sampel* yang dibuat dengan Polietilen Glikol 400, dan *Blangko*, dengan 7,4 volume Injeksi Natrium klorida untuk memperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 120 mg polietilen glikol per ml].

Amati tempat penyuntikan terhadap adanya reaksi jaringan seperti eritema, edema, dan nekrosis. Bila perlu, seka kulit perlahan-lahan dengan etanol encer untuk membantu pengamatan. Amati semua hewan pada 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah penyuntikan. Berikan skor penilaian untuk ekstrak *Sampel* dan *Blangko* ditentukan pada setiap interval penilaian (24 jam, 48 jam dan 72 jam) untuk setiap ekor kelinci. Setelah penilaian 72 jam, semua skor eritema ditambah skor edema dijumlah untuk masing-masing *Sampel* dan *Blangko*. Bagi masing-masing jumlah dengan 12 (2 hewan x 3 waktu penilaian x 2 kategori penilaian) untuk menentukan skor rata-rata keseluruhan untuk setiap *Sampel* versus setiap *Blangko*. Persyaratan uji dipenuhi jika perbedaan skor rata-rata antara *Sampel* dan *Blangko* tidak lebih dari 1,0, bila pada waktu pengamatan reaksi rata-rata lebih besar secara meragukan dari reaksi data-data *Blangko*, ulangi uji dengan menggunakan 3 ekor kelinci tambahan. Persyaratan uji dipenuhi bila perbedaan skor rata-rata antara *Sampel* dan *Blangko* tidak lebih dari 1,0.

**Uji Implantasi**

Uji implantasi dirancang untuk menilai bahan plastik dan polimer lain yang kontak langsung dengan jaringan hidup. Hal yang penting adalah penyiapan strip implantasi dan implantasi secara tepat dengan kondisi aseptik. Siapkan untuk implantasi 8 strip *Sampel* dan 4 strip *Plastik Kontrol Negatif BPF1*. Setiap strip harus berukuran tidak kurang dari 10 mm x 1 mm. Tepi strip harus sehalus mungkin untuk menghindarkan trauma mekanis tambahan sewaktu implantasi. Strip dengan ukuran minimum tertentu diimplantasi menggunakan jarum hipodermik (ukuran 15 hingga 19) dengan ujung intravena dan trokar steril. Gunakan jarum steril untuk tempat memasukkan strip plastik steril secara aseptik, atau masukkan setiap strip bersih ke dalam jarum, kanula dan bagian tengahnya dilindungi oleh penutup yang sesuai, dan kemudian lakukan prosedur sterilisasi yang sesuai. [Catatan Bila digunakan etilen oksida, diperlukan jangka waktu yang cukup untuk menghilangkan gas dengan sempurna.]

**Hewan Uji** Pilih kelinci dewasa sehat dengan bobot tubuh tidak kurang dari 2,5 kg, dan otot paravertebralnya

cukup besar untuk diimplantasi dengan strip uji. Jangan menggunakan jaringan otot lain selain otot paravertebral. Hewan harus dianestesi dengan bahan anestesi yang biasa digunakan sampai derajat yang cukup dalam untuk mencegah gerakan otot, seperti berkedut.

**Prosedur** Lakukan uji dalam ruangan bersih. Pada hari uji atau hingga 20 jam sebelum uji dilakukan, cukur bulu kelinci pada kedua sisi tulang belakang. Bersihkan rambut yang lepas dengan pompa hisap. Seka kulit dengan etanol encer dan keringkan kulit sebelum disuntik.

Implantasi 4 strip *Sampel* ke dalam otot paravertebral pada satu sisi tulang belakang masing-masing dari kedua kelinci, 2,5 hingga 5 cm dari garis tengah sejajar dengan tulang belakang, dan terpisah lebih kurang 2,5 cm satu sama lain. Dengan cara yang sama implantasi 2 strip *Plastik Kontrol Negatif BPF1* ke dalam otot paravertebral sisi yang berlawanan dari setiap kelinci. Masukkan stilet steril ke dalam jarum untuk menahan strip implan dalam jaringan sewaktu menarik jarum. Bila terjadi pendarahan yang berlebihan setelah implantasi masukkan strip kedua di tempat lain.

Pelihara hewan tersebut selama tidak kurang dari 120 jam, dan korbakan pada akhir waktu pengamatan dengan memberikan dosis berlebihan bahan anestesi atau bahan lain yang sesuai. Tunggu beberapa waktu sampai jaringan dapat dipotong tanpa menimbulkan pendarahan. Periksa secara makroskopik daerah jaringan sekitar bagian tengah dari setiap strip implan. Gunakan kaca pembesar dan sumber cahaya tambahan. Amati tempat implantasi *Sampel* dan *Kontrol* terhadap terjadinya pendarahan, nekrosis, perubahan warna, dan infeksi kemudian catat hasil pengamatan. Ukur enkapsulasi, bila ada dengan mengukur lebar kapsul (tepi rongga yang ditempati implan *Kontrol* atau *Sampel* ke bagian tepi kapsul) bulatkan sampai 0,1 mm. Beri skor untuk enkapsulasi sesuai dengan *Tabel 6*.

Hitung perbedaan antara skor rata-rata *Sampel* dan *Kontrol*. Persyaratan dipenuhi bila perbedaan tidak melebihi 1,0 atau bila perbedaan antara skor rata-rata *Sampel* dan *Kontrol* untuk lebih dari satu di antara empat tempat implantasi tidak lebih dari 1 untuk semua hewan yang diimplantasi.

**Tabel 6 Penilaian Enkapsulasi dalam Uji Implantasi**

Lebar kapsul	Skor
Tidak ada	0
Hingga 0,5 mm	1
0,6 – 1,0 mm	2
1,1 – 2,0 mm	3
Lebih dari 2,0 mm	4

## UJI KEAMANAN SECARA BIOLOGI

Uji keamanan yang dimaksud ditujukan untuk mendeteksi suatu bahan yang tidak diharapkan, reaktivitas secara biologi yang tidak dapat diterima. Uji secara *in vivo* ini disiapkan untuk penilaian keamanan secara biologi dan produk derivat bioteknologi.

### Uji Keamanan

Pilih 5 ekor mencit sehat yang belum pernah digunakan untuk pengujian, bobot tubuh antara 15 - 23 g, kecuali ditentukan lain dalam masing-masing monografi atau di tempat lain dalam bab ini, dan pelihara dengan diet seimbang yang cukup. Siapkan larutan uji seperti tertera dalam masing-masing monografi. Kecuali bila ditentukan lain dalam masing-masing monografi atau di tempat lain dalam bab ini, suntikkan secara intravena satu dosis 0,5 ml larutan uji pada masing-masing mencit menggunakan jarum ukuran 26 dengan panjang sesuai, atau panjang ditentukan di bawah ini. Amati hewan uji selama 48 jam setelah penyuntikan. Persyaratan uji dipenuhi, bila pada akhir 48 jam, semua hewan hidup dan tidak lebih dari satu ekor hewan menunjukkan gejala reaksi yang tidak biasa diharapkan dari derajat toksisitas yang berhubungan dengan bahan tersebut. Bila satu atau lebih hewan mati atau bila lebih dari satu ekor hewan menunjukkan tanda toksisitas abnormal atau toksisitas yang tidak diinginkan dari bahan uji, ulangi uji menggunakan sedikitnya 10 ekor mencit lain yang serupa dengan yang digunakan pada uji awal, tetapi bobot tubuh  $20 \pm 1$  g. Dalam kasus lain, bila semua hewan hidup selama 48 jam dan tidak menunjukkan gejala yang menunjukkan indikasi toksisitas abnormal atau toksisitas yang tidak seharusnya dari bahan tersebut, persyaratan uji dipenuhi.

Untuk bahan biologi, lakukan uji menggunakan tidak kurang dari 2 ekor mencit yang serupa seperti dijelaskan di atas, tetapi bobot tubuh kurang dari 22 g dan tidak kurang dari 2 ekor marmut sehat dengan bobot tubuh kurang dari 400 g. Kecuali bila ditentukan lain dalam masing-masing monografi, untuk sediaan cair atau sediaan beku kering yang telah direkonstitusi seperti tertera pada etiket, suntikan 0,5 ml secara intraperitoneal pada setiap mencit, dan suntikan 0,5 ml secara intraperitoneal pada setiap marmut. Untuk sediaan beku kering yang volume konstitusi tidak tertera pada etiket, atau untuk sediaan bukan cairan selain sediaan beku kering, lakukan uji menggunakan cara pemberian, dosis uji dan pelarut yang disetujui oleh institusi yang berwewenang, berdasarkan cukup bukti yang menunjukkan bahwa uji ini mempunyai kepekaan yang sama atau lebih besar dari uji yang diuraikan di atas. Amati hewan uji selama masa pengamatan minimum 7 hari. Bila semua hewan dapat melewati periode uji, tidak menunjukkan respons yang tidak spesifik atau tidak diharapkan dari sediaan tersebut yang mungkin menunjukkan perbedaan kualitas sediaan dan bobot tubuh tidak berkurang pada akhir masa pengamatan dibanding pada waktu penyuntikan, persyaratan uji dipenuhi. Bila

bahan tersebut tidak memenuhi persyaratan uji, ulangi seperti pada uji awal, dengan satu atau kedua spesies yang digunakan pada uji yang tidak memenuhi persyaratan. Bila hewan memenuhi kriteria yang ditentukan untuk uji awal, bahan tersebut memenuhi persyaratan uji. Bila bahan tersebut tidak memenuhi persyaratan setelah uji ulang pertama, dan tidak kurang dari 50% dari jumlah hewan pada uji awal dan uji ulang pertama, dari spesies yang tidak memenuhi persyaratan, dapat melewati masa pengamatan, uji ulang kedua dapat dilakukan. Gunakan 2 kali jumlah hewan dari spesies yang sesuai yang digunakan pada uji awal. Bila hewan memenuhi kriteria yang ditentukan untuk uji awal, persyaratan uji dipenuhi.

## IDENTIFIKASI BASA NITROGEN ORGANIK <261>

Cara ini digunakan untuk identifikasi senyawa amin tersier.

Jika zat berupa ruahan, larutkan 50 mg zat dalam 25 ml *asam klorida 0,01 N*. Untuk bentuk sediaan tablet atau kapsul, timbang sejumlah serbuk setara dengan 50 mg zat, kocok dengan 25 ml *asam klorida 0,01 N* selama 10 menit. Pindahkan larutan ke dalam corong pisah, saring jika perlu, bilas penyaring dan sisa beberapa kali dengan sedikit air. Dalam corong pisah kedua larutkan 50 mg *Baku Pembanding Farmakope Indonesia* yang sesuai dalam 25 ml *asam klorida 0,01 N*. Pada masing-masing larutan tambahkan 2 ml *natrium hidroksida 1 N* dan 4 ml *karbon disulfida P* dan kocok selama 2 menit. Jika perlu sentrifus, hingga lapisan bawah menjadi jernih, saring melalui penyaring kering, kumpulkan filtrat dalam labu kecil bersumbat kaca.

Segera ukur serapan inframerah dari masing-masing filtrat pada panjang gelombang antara 7  $\mu$ m dan 15  $\mu$ m menggunakan sel 1 mm dengan *karbon disulfida P* sebagai blangko. Spektrum serapan inframerah *Larutan uji* menunjukkan maksimum pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Larutan baku*.

## IDENTIFIKASI TETRASIKLIN <271>

Cara kromatografi berikut ini digunakan untuk memastikan identitas zat golongan tetrasiklin seperti doksisisiklin, oksitetrasiklin dan tetrasiklin, dan untuk memastikan identitasnya dalam sediaan. Ada dua cara yaitu kromatografi kertas (*Metode I*) dan kromatografi lapis tipis (*Metode II*). Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan *Metode I*.

**Larutan baku** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, larutkan *Baku Pembanding Farmakope Indonesia* untuk zat yang akan diidentifikasi dalam pelarut yang sama dan kadar yang sama seperti pada *Larutan uji*.

**Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada masing-masing monografi.



## Metode I

**Dapar pH 3,5** Larutkan 13,4 g *asam sitrat anhidrat P* dan 16,3 g *natrum fosfat dibasa P* dalam 1000 ml air, campur.

**Fase gerak** Buat campuran segar *kloroform P-nitrometan P-piridin P* (10:20:3).

**Larutan uji campuran** Buat campuran sama banyak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Kertas kromatografi** Buat garis penotolan 2,5 cm dari tepi bawah kertas saring (Whatman nomor 1 atau sejenis) 20 x 20 cm. Impregnasi kertas dengan *Dapar pH 3,5* dengan cara mencelupkan ke dalam wadah, hilangkan sisa pelarut dengan menekan kertas saring diantara dua kertas penyerap yang tidak berfluoresensi.

**Prosedur** Totolkan secara terpisah masing-masing 2 µl *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Larutan uji campuran* dengan jarak 1,5 cm. Diamkan sampai agak kering. Masukkan kertas ke dalam bejana untuk kromatografi menaik, yang telah berisi *Fase gerak* setinggi 0,6 cm, seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Biarkan fase gerak merambat lebih kurang 10 cm. Angkat kertas dan uapi dengan dengan uap amonia. Amati kromatogram di bawah cahaya Ultra Violet dengan panjang gelombang 366 nm. Catat bercak utama yang berfluoresensi kuning. Harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* dan *Larutan uji campuran* sesuai dengan bercak utama *Larutan baku*.

## Metode II

**Larutan resolusi** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, buat larutan dalam *metanol P* yang mengandung masing-masing 0,5 mg per ml *Klortetrasiklin Hidroklorida BPFI*, *Doksisiklin Hiklat BPFI*, *Oksitetrasiklin BPFI* dan *Tetrasiklin Hidroklorida BPFI*.

**Fase gerak** Campuran *asam oksalat 0,5 M*, yang telah diatur pH hingga 2,0 dengan penambahan *amonium hidroksida P-asetonitril P-metanol P* (80:20:20).

**Lempeng kromatografi** Gunakan lempeng kromatografi yang dilapisi dengan campuran *silika gel teroktilsilanisasi P* setebal 0,25 mm, aktifkan lempeng pada suhu 130° selama 20 menit, dinginkan dan gunakan selagi masih hangat.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Totolkan secara terpisah masing-masing 1 µl *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Larutan resolusi*. Diamkan sampai kering. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi, hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, diamkan pada udara kering. Uapi dengan uap amoniak selama 5 menit, segera amati di bawah cahaya Ultra violet dengan panjang gelombang 366 nm. Terjadi pemisahan sempurna pada bercak *Larutan resolusi* dan bercak utama *Larutan uji* mempunyai  $R_f$ , intensitas dan penampakan yang sama seperti pada *Larutan baku*.

## IDENTIFIKASI SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS <281>

### PROSEDUR UMUM

Prosedur berikut dapat digunakan untuk membantu dalam melakukan verifikasi identitas suatu zat aktif dan bentuk sediaannya.

Buat *Larutan uji* seperti tertera pada masing-masing monografi. Pada garis sejajar dan berjarak lebih kurang 2 cm dari tepi lempeng kromatografi lapis tipis campuran silika gel setebal 0,25 mm dan mengandung zat berfluoresensi yang sesuai seperti tertera pada *Kromatografi <931>*, totolkan masing-masing 10 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* yang dibuat dari *Baku Perbandingan FI* sesuai dengan zat yang diidentifikasi, dalam pelarut dan kadar yang sama dengan *Larutan uji*, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi. Biarkan totolan mengering, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, eluasi dengan fase gerak campuran *kloroform P-metanol P-air* (180:15:1), hingga fase gerak merambat lebih kurang tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan biarkan fase gerak menguap. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, amati lempeng di bawah cahaya Ultra Violet 254 nm. Harga  $R_f$  bercak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

### PROSEDUR UNTUK BASITRASIN, NEOMISIN DAN POLIMIKSIN B

Prosedur kromatografi lapis tipis berikut dapat digunakan untuk membantu dalam melakukan verifikasi identitas zat aktif basitrasin, neomisin, dan polimiksin B dan dalam bentuk sediaan tunggal dan dalam campuran dua atau tiga komponen.

Buat *Larutan uji* berikut kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

#### Larutan uji

*Untuk senyawa obat* Larutkan sejumlah basitrasin, zink basitrasin, neomisin sulfat, atau polimiksin B sulfat dalam *asam klorida 0,1 N* hingga kadar masing-masing lebih kurang 500 unit basitrasin FI per ml; 3,5 mg neomisin per ml, atau 10.000 unit polimiksin B FI per ml.

*Untuk larutan* Encerkan larutan yang mengandung neomisin dan polimiksin B dengan *asam klorida 0,1 N* hingga kadar setara dengan lebih kurang 3,5 mg neomisin per ml. Untuk larutan yang mengandung polimiksin B tetapi tidak mengandung neomisin, encerkan larutan dengan *asam klorida 0,1 N* hingga kadar lebih kurang 10.000 unit polimiksin B FI per ml.

*Untuk krim, losio, dan salep* Untuk krim, losio, atau salep mengandung basitrasin atau zink basitrasin, pindahkan setara dengan lebih kurang 500 unit basitrasin FI, ke dalam tabung sentrifuga 15 ml. Untuk krim, losio, atau salep yang mengandung neomisin tapi tidak mengandung basitrasin atau zink basitrasin, pindahkan setara dengan lebih kurang 3,5 mg neomisin per ml ke dalam tabung sentrifuga 15 ml. Tambahkan 4 ml

kloroform *P* ke dalam tabung sentrifuga, kocok baik untuk mendispersikan krim, losio, atau salep. Tambahkan 1 ml asam klorida 0,1 *N*, vorteks selama 4 menit, sentrifus, dan gunakan beningan.

[Catatan Larutan uji modifikasi seperti tertera pada Prosedur modifikasi dapat digunakan sebagai pengganti Larutan uji.]

**Larutan baku basitrasin** Larutkan sejumlah Zink Basitrasin BPF<sub>I</sub> dalam asam klorida 0,1 *N* hingga kadar lebih kurang 500 unit Basitrasin FI per ml.

**Larutan baku neomisin** Larutkan sejumlah Neomisin Sulfat BPF<sub>I</sub> dalam asam klorida 0,1 *N* hingga kadar lebih kurang 3,5 mg neomisin (basa) per ml.

**Larutan baku polimiksin B** Larutkan sejumlah Polimiksin B Sulfat BPF<sub>I</sub> dalam asam klorida 0,1 *N* hingga kadar lebih kurang 10.000 unit Polimiksin B FI per ml. Jika sediaan mengandung basitrasin atau zink basitrasin, larutkan sejumlah Polimiksin B Sulfat BPF<sub>I</sub> dalam asam klorida 0,1 *N* hingga kadar lebih kurang 500 *J* unit Polimiksin sulfat FI per ml. *J* adalah perbandingan jumlah unit Polimiksin B FI dengan jumlah unit Basitrasin FI dalam tiap g krim, losio, atau salep yang tertera pada etiket.

**Fase gerak** Campuran metanol *P*-isopropil alkohol *P*-metilen klorida *P*-amonium hidroksida *P*-air (4:2:2:1,5).

**Prosedur** Totolkan masing-masing 10 µl Larutan uji dan masing-masing Larutan baku yang sesuai, pada tepi lempeng kromatografi campuran silika gel setebal 0,25 mm dan mengandung zat berfluorosensi yang sesuai seperti tertera pada Kromatografi <931>. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan fase gerak, eluasi dengan fase gerak hingga fase gerak merambat tiga perempat tinggi lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat dan keringkan pada suhu 105° selama 10 menit. Semprot lempeng dengan larutan ninhidrin 0,2% dalam butil alkohol *P*, dan panaskan pada 105° selama 5 menit. Harga *R<sub>f</sub>* masing-masing bercak utama kromatogram Larutan uji sesuai dengan Larutan baku yang sesuai untuk setiap zat aktif yang tertera pada etiket. Jika kromatogram Larutan uji menghasilkan kromatogram dengan penotolan yang berlebih, lakukan seperti tertera pada Prosedur modifikasi.

**Prosedur modifikasi** Pipet Larutan uji ke dalam tabung sentrifuga 15 ml, tambahkan 10 ml larutan asam pikrat *P* jenuh (1,2% b/v), vorteks selama 1 menit, sentrifus selama 10 menit, dan buang beningan. Cuci residu beberapa kali, tiap kali dengan 1 ml air sampai air cucian tidak berwarna kuning. Buang air cucian, dan keringkan residu dengan aliran nitrogen *P* pada suhu 50°. Larutkan residu dalam 1 ml aseton *P*, tambahkan 1 ml larutan asam sulfat *P* dalam aseton *P* (1 dalam 100) yang dibuat segar, kocok, sentrifus selama 5 menit, dan buang beningan. Bilas residu dengan 1 ml aseton *P*, sentrifus sebentar, buang cucian. Ulangi pencucian sampai air cucian tidak berwarna kuning. Keringkan residu dengan aliran nitrogen *P* pada suhu 50°. Larutkan residu dalam 0,5 ml asam klorida 0,1 *N* (Larutan uji modifikasi). Ulangi penetapan seperti tertera pada Prosedur

menggunakan Larutan uji modifikasi menggantikan Larutan uji. Harga *R<sub>f</sub>* masing-masing bercak utama kromatogram Larutan uji modifikasi sesuai dengan Larutan baku untuk zat aktif atau masing-masing zat aktif yang tertera pada etiket.

## UJI IDENTIFIKASI UMUM <291>

Berikut ini cara uji yang sering digunakan untuk identifikasi zat yang tertera dalam Farmakope.

[Catatan Uji ini tidak dimaksudkan untuk dilakukan terhadap campuran zat, kecuali jika dinyatakan demikian.]

### Aluminium

A. Tambahkan amonium hidroksida 6 *N* ke dalam larutan garam aluminium: terbentuk endapan berupa gel putih yang tidak larut dalam amonium hidroksida 6 *N* berlebih.

B. Tambahkan natrium hidroksida 1 *N* atau natrium sulfida LP ke dalam larutan garam aluminium: terbentuk endapan berupa gel putih yang larut dalam natrium hidroksida 1 *N* atau natrium sulfida LP berlebih.

**Amonium** Tambahkan natrium hidroksida 1 *N* berlebih ke dalam garam amonium: terjadi uap amoniak yang dapat dikenal dari baunya dan mengubah warna kertas lakmus merah *P* menjadi biru. Hangatkan larutan untuk mempercepat reaksi.

**Antimon** Tambahkan hidrogen sulfida LP ke dalam larutan senyawa antimon(III) yang sudah diasamkan dengan asam klorida *P*: terbentuk endapan jingga antimon sulfida yang tidak larut dalam amonium hidroksida 6 *N*, tetapi larut dalam amonium sulfida LP.

### Asetat

A. Hangatkan asam asetat atau garamnya dengan asam sulfat *P* dan etanol *P*: terjadi etil asetat yang dapat dikenal dari baunya yang khas.

B. Tambahkan besi(III) klorida LP ke dalam larutan asetat netral: terjadi warna merah tua yang rusak dengan penambahan asam mineral.

C. Panaskan dengan sejumlah yang sama asam oksalat *P*: terjadi uap asam dengan bau khas asam asetat.

D. Larutkan 20 hingga 40 mg dalam 3 ml air, tambahkan berturut-turut 0,25 ml larutan lantanum nitrat *P* 5%, 0,1 ml iodum 0,1 *N* dan 0,05 ml amonium hidroksida 2 *N*. Panaskan campuran hingga mendidih, setelah beberapa menit: terbentuk endapan biru atau larutan warna biru tua.

### Barium

A. Tambahkan asam sulfat 2 *N* ke dalam larutan garam barium: terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam asam klorida *P* dan dalam asam nitrat *P*.

B. Garam barium memberikan nyala hijau ke-kuningan dalam nyala api yang tidak berwarna, dan jika dilihat melalui kaca hijau nyala berwarna biru.

### **Benzoat**

A. Tambahkan *besi(III) klorida LP* ke dalam larutan netral benzoat: terbentuk endapan merah muda kekuningan.

B. Asamkan larutan pekat benzoat dengan *asam sulfat 2 N*: terbentuk endapan asam benzoat yang mudah larut dalam eter *P*.

**Besi** Tambahkan *amonium sulfida LP* ke dalam larutan senyawa besi(II) atau besi(III): terbentuk endapan hitam yang larut dalam *asam klorida 3 N* dingin dengan membebaskan hidrogen sulfida.

### *Garam besi(III)*

A. Tambahkan *kaliium heksasianoferrat(II) LP* ke dalam larutan asam dari garam besi(III): terbentuk endapan biru tua.

B. Tambahkan *natrium hidroksida 1 N* berlebih: terbentuk endapan cokelat kemerahan.

C. Tambahkan *amonium tiosianat LP* ke dalam larutan *garam besi(III)*: terjadi warna merah tua yang tidak rusak oleh penambahan asam mineral encer.

### *Garam besi(II)*

A. Tambahkan *kaliium heksasianoferrat(III) LP* ke dalam larutan *garam besi(II)*: terbentuk endapan biru tua yang tidak larut dalam *asam klorida 3 N*, tetapi terurai oleh natrium hidroksida 1 N.

B. Tambahkan *natrium hidroksida 1 N* ke dalam larutan *garam besi(II)*: terbentuk endapan putih kehijauan yang dengan cepat berubah menjadi hijau dan kemudian cokelat jika dikocok.

**Bikarbonat** Lakukan seperti tertera pada *Karbonat*.

### **Bismut**

A. Larutkan garam bismut dalam *asam nitrat P* atau *asam klorida P* sedikit berlebih: terbentuk endapan putih pada pengenceran dengan air. Tambahkan *hidrogen sulfida LP* atau *natrium sulfida LP*: endapan menjadi cokelat yang larut dalam campuran hangat *asam nitrat P* dan air volume sama.

B. Pada 40 hingga 50 mg zat tambahkan 10 ml asam nitrat 2 N, didihkan selama 1 menit, biarkan dingin dan saring jika perlu. Pada 5 ml filtrat, tambahkan 2 ml larutan *tiourea P 10%*: terbentuk endapan jingga kekuningan. Tambahkan 4 ml larutan *natrium fluorida P 2,5 %*: warna larutan tidak hilang selama 30 menit.

**Bisulfit** Lakukan seperti tertera pada *Sulfit*.

### **Borat**

A. Asamkan 1 ml larutan borat dengan *asam klorida P* hingga bereaksi asam terhadap lakmus. Tambahkan 3 atau 4 tetes larutan jenuh *iodum LP* dan 3 atau 4 tetes larutan *polivinil alkohol P (1 dalam 50)*: terjadi warna biru intensif.

B. Tambahkan *asam sulfat P* dan *metanol P*, campur, kemudian bakar: terjadi nyala api bertepi hijau.

### **Bromida**

A. Tambahkan *klor LP* tetes demi tetes ke dalam larutan bromida: terjadi brom bebas yang larut dalam *kloroform P* pada pengocokan, lapisan kloroform berwarna merah sampai cokelat kemerahan.

B. Tambahkan *perak nitrat LP* ke dalam larutan bromida: terbentuk endapan putih kekuningan yang tidak larut dalam *asam nitrat P* dan sedikit larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

C. Ke dalam sejumlah zat uji setara dengan lebih kurang 5 mg ion bromida di dalam tabung reaksi kecil tambahkan 0,25 ml air, lebih kurang 75 mg *timbal(IV) oksida P* dan 0,25 ml *asam asetat 5 N*, kocok perlahan-lahan. Keringkan bagian dalam atas tabung dengan kertas saring dan biarkan selama 5 menit. Celup secarik kertas saring dalam setetes *magenta dekolorisasi LP* dan segera masukkan ke dalam tabung reaksi: terjadi warna ungu dalam 10 detik dimulai dari ujung kertas saring, yang dapat dibedakan dari warna merah magenta, yang terlihat sedikit pada ujung kertas saring.

**Fosfat** [Catatan Jika pada monografi dinyatakan untuk uji Fosfat, lakukan penetapan menggunakan uji ortofosfat, jika tidak dinyatakan atau jika dilakukan pemijaran sebelum dilakukan uji gunakan uji pirofosfat.]

### *Ortofosfat*

A. Tambahkan *perak nitrat LP* ke dalam larutan netral ortofosfat: terbentuk endapan kuning yang larut dalam *asam nitrat 2 N* dan dalam *amonium hidroksida 6 N*.

B. Tambahkan *amonium molibdat LP* ke dalam larutan asam dari ortofosfat: terbentuk endapan kuning yang larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

### *Pirofosfat*

A. Tambahkan *perak nitrat LP* ke dalam larutan pirofosfat yang diperoleh dari pemijaran: terbentuk endapan putih yang larut dalam *asam nitrat 2 N* dan dalam *amonium hidroksida 6 N*.

B. Tambahkan *amonium molibdat LP*: terbentuk endapan kuning yang larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

### *Hipofosfit*

A. Panaskan kuat-kuat: segera terbentuk fosfin yang mudah terbakar.

B. Tambahkan *raksa(II) klorida LP* ke dalam larutan hipofosfit: terbentuk endapan putih yang berubah menjadi abu-abu pada hipofosfit berlebih.

C. Asamkan larutan hipofosfit dengan *asam sulfat P*, hangatkan dengan *tembaga(II) sulfat LP*: terbentuk endapan merah.

### **Iodida**

A. Tambahkan *klor LP* tetes demi tetes ke dalam larutan iodida: terjadi iodum bebas yang memberi warna kuning hingga merah pada larutan. Kocok larutan dengan *kloroform P*: lapisan kloroform menjadi ungu. Iodum yang dibebaskan juga memberikan warna biru dengan *kanji LP*.

B. Tambahkan *perak nitrat LP* ke dalam larutan

iodida: terbentuk endapan kuning menggumpal seperti dadih yang tidak larut dalam *asam nitrat P* dan dalam *amonium hidroksida 6 N*.

#### Kalium

A. Senyawa kalium memberikan warna ungu dalam nyala api tidak berwarna, yang akan tertutup dengan adanya sedikit natrium. Pengaruh warna kuning yang dihasilkan oleh natrium dapat dihilangkan dengan mengamati melalui penyaring biru yang menahan emisi natrium pada 589 nm tetapi melewati emisi kalium pada 404 nm. Juga dapat digunakan kaca kobalt dan penyaring lain yang tersedia secara komersial.

B. Tambahkan *natrium bitartrat LP* ke dalam larutan netral kalium, pekat atau cukup pekat (tergantung pada kelarutan dan kadar kalium): terbentuk endapan hablur putih yang larut dalam *amonium hidroksida 6 N* dan dalam larutan alkali hidroksida dan alkali karbonat. Pembentukan endapan, yang biasanya lambat, dipercepat dengan pengadukan atau penggoresan bagian dalam tabung reaksi dengan batang pengaduk. Penambahan sedikit *asam asetat glasial P* atau *etanol P* dapat mempercepat pengendapan.

#### Kalsium

A. Ke dalam larutan garam kalsium (1 dalam 20) tambahkan 2 tetes *merah metil LP*, dan netralkan dengan *amonium hidroksida 6 N*. Tambahkan *asam klorida 3 N* tetes demi tetes hingga larutan asam terhadap indikator. Tambahkan *amonium oksalat LP*: terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam *asam asetat 6 N*, tetapi larut dalam *asam klorida P*.

B. Basahi garam kalsium dengan *asam klorida P*: terjadi warna merah kekuningan dalam nyala tidak berwarna.

C. Ke dalam 0,2 ml larutan netral yang mengandung lebih kurang 40 µg ion kalsium tambahkan 0,5 ml larutan *glioksal-bis(2-hidroksianil) P 0,2%* dalam *etanol P*, 9,2 ml *natrium hidroksida 2 N* dan 0,2 ml *natrium karbonat 1 M*. Ekstraksi dengan 1 hingga 2 ml *kloroform P* dan tambahkan 1 - 2 ml air: lapisan kloroform berwarna merah.

D. Larutkan 20 mg dalam 5 ml *asam asetat 5 N*, tambahkan 0,5 ml larutan *kaliun heksasianoferat(II) P 5,0%*: larutan tetap jernih. Tambahkan lebih kurang 50 mg *amonium klorida P*: terbentuk endapan hablur putih.

#### Karbonat

A. Tambahkan asam ke dalam karbonat atau bikarbonat: terjadi gelembung gas tidak berwarna yang jika dialirkan ke dalam *kalsium hidroksida LP* segera membentuk endapan putih.

B. Tambahkan *fenolftalein LP* ke dalam larutan dingin karbonat (1 dalam 20): terjadi warna merah, sedangkan pada larutan dingin bikarbonat (1 dalam 20): tidak terjadi perubahan warna atau hanya sedikit berwarna.

#### Klorat

A. Tambahkan *perak nitrat LP* ke dalam larutan klorat: tidak terbentuk endapan. Tambahkan *asam sulfat P*:

terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam *asam nitrat P*, tetapi larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

B. Pada pemijaran akan dihasilkan klorida yang dapat diidentifikasi seperti tertera pada uji *Klorida*.

C. Tambahkan *asam sulfat P* pada senyawa klorat kering: terjadi letikan dan timbul gas kuning kehijauan.

[Perhatian Gunakan sedikit zat uji dan lakukan dengan sangat hati-hati pada pengujian ini.]

#### Klorida

A. Tambahkan *perak nitrat LP* ke dalam larutan klorida: terbentuk endapan putih seperti dadih yang tidak larut dalam *asam nitrat P*, tetapi larut dalam *amonium hidroksida 6 N* sedikit berlebih.

B. Pada uji amin klorida (termasuk alkaloida klorida) tidak menunjukkan reaksi terhadap uji *A*, tambahkan 1 tetes *asam nitrat encer P* dan 0,5 ml *perak nitrat LP* pada larutan uji jika tidak dinyatakan lain pada monografi, lebih kurang 2 mg ion klorida dalam 2 ml: terbentuk endapan putih seperti dadih. Sentrifus segera campuran dan pisahkan beningan. Cuci endapan tiga kali, tiap kali dengan 1 ml *asam nitrat P* (1 dalam 100) dan buang air cucian. Tambahkan tetes demi tetes *ammonia LP* pada endapan: endapan segera larut.

C. Campur senyawa klorida kering dengan *mangan dioksida P* bobot sama, basahi dengan *asam sulfat P*, dan panaskan perlahan: terbentuk klor yang menghasilkan warna biru pada *kertas kanji iodida P* basah.

D. Masukkan ke dalam tabung reaksi sejumlah zat uji yang mengandung 10 - 15 mg ion klorida, tambahkan 200 mg *kaliun bikromat P* dan 1 ml *asam sulfat P*. Letakkan kertas saring yang dibasahi dengan 0,1 ml *difenilkarbazida LP* menutupi tabung reaksi: kertas saring berubah menjadi merah ungu. Kertas saring yang dibasahi tidak boleh menyentuh larutan kaliun bikromat.

#### Kobalt

A. Ke dalam larutan garam kobalt (1 dalam 20) dalam *asam klorida 3 N*, tambahkan larutan panas segar *1-nitroso-2-naftol P* (1 dalam 10) dalam *asam asetat 9 N* volume sama, panaskan di atas tangas uap: terbentuk endapan merah.

B. Jenuhkan larutan garam kobalt dengan *kaliun klorida P*, tambahkan *kaliun nitrit P* dan *asam asetat P*: terbentuk endapan kuning.

**Laktat** Asamkan larutan laktat dengan *asam sulfat P*, kemudian tambahkan *kaliun permanganat LP*, dan panaskan: timbul asetaldehida, yang dapat dikenal dari baunya yang spesifik. Lewatkan uap pada kertas saring yang telah dibasahi dengan campuran volume sama larutan *morfolin P 20%* dan *natrium nitroferisianida LP* dalam air: terjadi warna biru.

#### Litium

A. Basakan larutan garam litium yang cukup pekat dengan *natrium hidroksida P*, tambahkan *natrium karbonat LP*, dan didihkan: terbentuk endapan putih yang larut dalam *amonium klorida LP*.

B. Basahi garam litium dengan *asam klorida P*: terjadi

warna merah tua dalam nyala api tidak berwarna.

C. Tambahkan *asam sulfat 2 N* atau sulfat yang larut ke dalam larutan garam litium: tidak terbentuk endapan (*perbedaan dari stronsium*).

#### Magnesium

A. Tambahkan *amonium klorida P* ke dalam larutan garam magnesium, kemudian netralkan dengan *amonium karbonat LP*: tidak terbentuk endapan. Tambahkan selanjutnya *natrium fosfat dibasa LP*: terbentuk endapan hablur putih, yang tidak larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

B. Ke dalam 0,5 ml larutan netral atau sedikit asam tambahkan 0,2 ml larutan *kuning titan P 0,1 %* dan 0,5 ml *natrium hidroksida 0,1 N*: terjadi kekeruhan merah terang yang perlahan-lahan berubah menjadi endapan merah terang.

**Mangan** Tambahkan *amonium sulfida LP* ke dalam larutan garam mangan: terbentuk endapan merah muda kekuningan, yang larut dalam *asam asetat P*.

#### Natrium

A. Senyawa natrium menimbulkan warna kuning intensif dalam nyala api yang tidak berwarna

B. Jika tidak dinyatakan lain pada monografi, larutkan 100 mg senyawa natrium dalam 2 ml air, tambahkan 2 ml larutan *kalium karbonat P 15%*, panaskan hingga mendidih: tidak terbentuk endapan. Tambahkan 4 ml *kalium piroantimonat LP* dan panaskan sampai mendidih. Dinginkan dalam es, jika perlu gores bagian dalam wadah dengan batang pengaduk: terbentuk endapan.

C. Ke dalam 0,5 ml larutan yang mengandung lebih kurang 2 mg ion natrium tambahkan 1,5 ml *asam  $\alpha$ -metoksifenil asetat LP*, dinginkan dalam es selama 30 menit: terbentuk endapan hablur putih ruah. Hangatkan dalam air pada suhu 20° dan aduk selama 5 menit: endapan tidak larut. Tambahkan 1 ml *amonium hidroksida 2 N*, endapan larut sempurna. Tambahkan 1 ml larutan *amonium karbonat P 16%*: tidak terbentuk endapan.

#### Nitrat

A. Campur larutan nitrat dengan *asam sulfat P* volume sama, dinginkan, dan alirkan larutan *besi(II) sulfat P* di atas campuran tersebut: terjadi warna cokelat pada batas kedua cairan.

B. Panaskan nitrat dengan *asam sulfat P* dan logam tembaga: terjadi asap merah kecokelatan.

C. Tambahkan *kalium permanganat LP* asam pada nitrat: warna kalium permanganat tidak hilang (*perbedaan dari nitrit*)

D. Ke dalam campuran 0,1 ml *nitrobenzen P* dan 0,2 ml *asam sulfat P* tambahkan sejumlah zat uji yang mengandung lebih kurang 1 mg ion nitrat, diamkan selama 5 menit. Dinginkan dalam es, tambahkan 5 ml air perlahan-lahan dengan pengadukan, kemudian 5 ml *natrium hidroksida 10 N* dan 5 ml *aseton P*, kocok dan diamkan: lapisan atas berwarna ungu tua.

#### Nitrit

A. Tambahkan asam mineral encer atau *asam asetat 6 N* pada nitrit: terjadi asap merah kecokelatan.

B. Teteskan larutan pada *kertas kanji iodida P*: terjadi warna biru.

#### Oksalat

A. Tambahkan *kalsium klorida LP* ke dalam larutan netral atau alkalis oksalat: terbentuk endapan putih, yang tidak larut dalam *asam asetat 6 N*, tetapi larut dalam *asam klorida P*.

B. Tambahkan larutan panas oksalat yang sudah diasamkan ke dalam *kalium permanganat LP*: larutan tidak berwarna.

#### Perak

A. Tambahkan *asam klorida P* ke dalam larutan garam perak: terbentuk endapan putih seperti dadih, yang tidak larut dalam *asam nitrat P*, tetapi mudah larut dalam *amonium hidroksida 6 N*.

B. Tambahkan *amonium hidroksida 6 N* dan sedikit *formaldehida LP* ke dalam larutan garam perak, kemudian hangatkan: terbentuk cermin logam perak pada dinding tabung.

**Permanganat** Larutan permanganat yang diasamkan dengan *asam sulfat P* akan hilang warnanya oleh *hidrogen peroksida LP* dan *natrium bisulfit LP*, dalam keadaan dingin, dan oleh *asam oksalat LP*, dalam larutan panas.

**Peroksida** Asamkan larutan peroksida dengan *asam sulfat P*, tambahkan *kalium bikromat LP*: terjadi warna biru tua. Kocok campuran dengan *eter P* volume sama, biarkan memisah: lapisan eter berwarna biru.

#### Raksa

A. Celupkan lembaran tembaga yang mengkilap ke dalam larutan garam raksa yang bebas dari asam nitrat berlebih: terjadi lapisan tipis yang setelah digosok menjadi mengkilap keperakan.

B. Tambahkan *hidrogen sulfida LP* ke dalam larutan senyawa raksa: terbentuk endapan hitam, yang tidak larut dalam *amonium sulfida LP* dan dalam *asam nitrat 2 N* mendidih.

#### Garam Raksa (II)

A. Tambahkan *natrium hidroksida 1 N* ke dalam larutan garam raksa: terbentuk endapan kuning.

B. Tambahkan *kalium iodida LP* ke dalam larutan netral: terbentuk endapan merah tua yang sangat mudah larut dalam pereaksi berlebih.

#### Garam Raksa (I)

A. Tambahkan *natrium hidroksida 1 N* pada senyawa raksa(I): terurai dan membentuk endapan hitam.

B. Tambahkan *asam klorida P* ke dalam larutan garam raksa(I): terbentuk endapan putih yang akan menjadi hitam pada penambahan *amonium hidroksida 6 N*.

C. Tambahkan *kalium iodida LP*: terbentuk endapan kuning, dan setelah didiamkan berubah menjadi hijau.

#### Salisilat

A. Tambahkan *besi(III) klorida LP* ke dalam larutan encer salisilat: terjadi warna ungu.

B. Tambahkan *asam klorida P* ke dalam larutan pekat salisilat: terbentuk endapan hablur putih asam salisilat yang melebur pada suhu antara 158° dan 161°.

**Sitrat** Larutkan atau suspensikan beberapa mg garam sitrat dalam 1 ml air, tambahkan ke dalam 15 ml *piridin P*, dan kocok. Tambahkan 5 ml *anhidrida asetat P* ke dalam campuran, dan kocok: terjadi warna merah muda.

#### Sulfat

A. Tambahkan *barium klorida LP* ke dalam larutan sulfat: terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam *asam klorida P* dan *asam nitrat P*.

B. Tambahkan *timbal(II) asetat LP* ke dalam larutan netral sulfat: terbentuk endapan putih yang larut dalam *amonium asetat LP*.

C. Tambahkan *asam klorida P* ke dalam larutan sulfat: tidak terbentuk endapan (perbedaan dari tiosulfat).

D. Tambahkan 0,1 ml *iodum-kalium iodida LP* ke dalam suspensi yang didapat dari reaksi A: suspensi tetap kuning (perbedaan dari sulfit dan ditionit), tetapi dengan penambahan *timah(II) klorida LP* tetes demi tetes: warna suspensi hilang (perbedaan dari iodat). Didihkan campuran: tidak terbentuk endapan berwarna (perbedaan dari selenat dan tungstat).

**Sulfit** Campur *asam klorida 3 N* dengan sulfit atau bisulfit: terbentuk belerang dioksida yang menghitamkan kertas saring yang dibasahi dengan *raksa(I) nitrat LP*.

#### Tartrat

A. Larutkan beberapa mg garam tartrat dalam 2 tetes larutan *natrium periodat P* (1 dalam 20). Tambahkan 1 tetes *asam sulfat 1 N* dan setelah 5 menit, tambahkan beberapa tetes *asam sulfit P*, kemudian beberapa tetes *fukhsin-asam sulfit LP*: terjadi warna merah muda dalam waktu 15 menit.

B. Ke dalam 10 hingga 20 mg zat uji yang dilarutkan dalam 5 ml air, tambahkan 0,05 ml larutan *besi(II) sulfat P 1%* dan 0,05 ml larutan *hidrogen peroksida P 3%*: terjadi warna kuning yang tidak stabil. Setelah warna hilang tambahkan *natrium hidroksida 2 N* tetes demi tetes: terjadi warna biru intensif.

C. Campur 0,1 ml larutan yang mengandung 1 - 2 mg *asam tartrat P* dengan 0,1 ml larutan *kalium bromida P 10%*, 0,1 ml larutan *resorsinol P 2%*, dan 3 ml *asam sulfat P*, panaskan di atas tangas air selama 5 - 10 menit: terjadi warna biru tua yang berubah menjadi merah jika larutan didinginkan dan dituang ke dalam air.

#### Tembaga

A. Asamkan larutan senyawa tembaga(II) dengan *asam klorida P*: terbentuk lapisan tipis merah logam tembaga pada permukaan logam besi yang mengkilap.

B. Tambahkan *amonium hidroksida 6 N* berlebih ke dalam larutan garam tembaga(II): terbentuk endapan kebiruan, kemudian larutan menjadi berwarna biru tua.

C. Tambahkan *kalium heksasianoferrat(II) LP* ke dalam larutan garam tembaga(II): terbentuk endapan cokelat kemerahan yang tidak larut dalam asam encer.

#### Timbal

A. Tambahkan *asam sulfat 2 N* ke dalam larutan garam timbal: terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam *asam klorida 3 N* atau *asam nitrat 2 N*, tetapi larut dalam *natrium hidroksida 1 N* hangat dan dalam *amonium asetat LP*.

B. Tambahkan *kalium kromat LP* ke dalam larutan garam timbal bebas atau hampir bebas asam mineral: terbentuk endapan kuning yang tidak larut dalam *asam asetat 6 N* tetapi larut dalam *natrium hidroksida 1 N*.

**Tiosianat** Tambahkan *besi(III) klorida LP* ke dalam larutan tiosianat: terjadi warna merah yang tidak rusak oleh asam mineral yang cukup pekat.

#### Tiosulfat

A. Tambahkan *asam klorida P* ke dalam larutan tiosulfat: terbentuk endapan putih yang segera berubah menjadi kuning, dan terbentuk belerang dioksida yang menghitamkan kertas saring yang dibasahi dengan *raksa(I) nitrat LP*.

B. Tambahkan *besi(III) klorida LP* ke dalam larutan tiosulfat: terjadi warna ungu tua yang cepat hilang.

#### Zink

A. Tambahkan *hidrogen sulfida LP* dan *natrium asetat P* ke dalam larutan garam zink: terbentuk endapan putih, yang tidak larut dalam *asam asetat P*, tetapi larut dalam *asam klorida 3 N*.

B. Tambahkan *amonium sulfida LP* ke dalam larutan netral atau alkalis: terbentuk endapan putih seperti pada uji A.

C. Tambahkan *kalium heksasianoferrat(II) LP* ke dalam larutan garam zink: terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam *asam klorida 3 N*.

### PENETAPAN SISA PEMIJARAN <301>

Penetapan sisa pemijaran/abu sulfat ini menggunakan prosedur untuk mengukur jumlah sisa zat yang tidak menguap dari contoh bila contoh dipijarkan dengan penambahan asam sulfat sesuai dengan prosedur yang diuraikan di bawah ini.

Uji ini ini biasanya digunakan untuk menentukan kandungan cemaran anorganik dalam zat organik

*Prosedur* Pijarkan krus yang sesuai (sebagai contoh silika, kuarsa atau porselen) pada 600±50° selama 30 menit, dinginkan krus dalam desikator dan timbang saksama. Timbang saksama 1-2 g zat atau sejumlah seperti tertera pada masing-masing monografi kedalam krus.

Basahkan contoh dengan sejumlah kecil, umumnya 1ml *asam sulfat P*, kemudian panaskan perlahan-lahan

sampai contoh mengarang sempurna, dinginkan. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, basahkan residu dengan sejumlah kecil, umumnya 1 ml *asam sulfat P*, panaskan hati-hati sampai tidak terbentuk asap putih, dan pijarkan pada  $600^{\circ}\pm 50^{\circ}$  kecuali dinyatakan pada temperatur yang khusus pada masing-masing monografi sampai residu habis terbakar. Pastikan bahwa api tidak diproduksi setiap saat selama prosedur. Dinginkan krus dalam desikator, timbang saksama dan hitung persentasi sisa. Jika jumlah sisa yang diperoleh lebih dari batas yang ditetapkan pada masing-masing monografi, kecuali dinyatakan lain, basahkan lagi sisa dengan *asam sulfat P*, panaskan dan pijarkan seperti sebelumnya selama 30 menit, sehingga perbedaan penimbangan dua berturut-turut tidak lebih dari 0,5 mg atau hingga persen dari sisa memenuhi batas pada masing-masing monografi.

Lakukan pemijaran dalam lemari asam berventilasi baik, tetapi terlindung dari aliran udara dan pada suhu serendah mungkin agar pembakaran karbon terjadi sempurna. Dapat menggunakan tanur, jika diinginkan dan untuk pemijaran akhir direkomendasikan menggunakan suhu pada  $600^{\circ}\pm 50^{\circ}$ .

Kalibrasi tanur dapat dilakukan menggunakan pengukur suhu digital yang sesuai dan termokopel kerja yang dikalibrasi terhadap termokopel baku yang dapat ditelusuri ke "National Institute of Standards and Technology".

Periksa ketepatan pengukuran dan pengendalian sirkuit tanur dengan memeriksa posisi didalam tanur pada suhu kontrol yang ditetapkan untuk penggunaan. Pilih posisi letak zat yang sesuai dengan metode yang digunakan. Toleransi  $\pm 25^{\circ}$  pada setiap posisi yang diukur.

#### UJI BATAS 4-EPIANHIDROTETRASIKLIN <311>

Cara kromatografi ini digunakan untuk menunjukkan kandungan 4-epianhidrotetrasiklin sebagai hasil urai tetrasiklin, tidak melebihi batas yang tertera pada masing-masing monografi.

**Dapar etilendiamintetraasetat** Larutkan 37,2 g *dinatrium etilendiamintetraasetat P* dalam 800 ml air, atur hingga pH 7,8 dengan *ammonium hidroksida P*, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Fase diam** Tambahkan 5 ml *Dapar etilendiamintetraasetat* pada 10 g *tanah silika untuk kromatografi P* yang telah dicuci dengan asam, campur sampai rata terbasahi.

**Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Prosedur** Siapkan kolom kromatografi 15 x 170 mm dengan ujung bawah 4 mm x 50 mm, masukkan *Fase diam* sedikit demi sedikit, mampatkan kuat tiap penambahan hingga terisi setinggi lebih kurang 10 cm. Dalam gelas piala, campurkan 1 g *tanah silika untuk kromatografi P* yang telah dicuci dengan asam dan 1 ml *Larutan uji*. Tuangkan campuran ke dalam bagian atas kolom. Bilas gelas piala dengan *Fase diam*, masukkan ke dalam kolom hingga setebal 1 cm di atas campuran yang

berisi *Larutan uji*. Dalam waktu 30 menit alirkan *kloroform P* ke dalam kolom dan tampung fraksi berturut-turut: 5,0 ml; 5,0 ml; 10,0 ml; 10,0 ml dan 5,0 ml. Amati kolom selama eluasi dan perhatikan bila ada dua pita kuning yang terpisah. Buang fraksi atau fraksi-fraksi pita kuning pertama yang mengandung anhidrotetrasiklin. Fraksi-fraksi sesudah pita kuning pertama mengandung 4-epianhidrotetrasiklin. Tetapkan serapan tiap fraksi 4-epianhidrotetrasiklin pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 438 nm, (jika perlu masing-masing fraksi tersebut diencerkan dengan *kloroform P*), dan menggunakan *kloroform P* sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg 4-epianhidrotetrasiklin dalam tiap fraksi dengan rumus :

$$\frac{AVD}{20,08}$$

*A* adalah serapan; *V* adalah volume fraksi yang digunakan dalam ml; *D* adalah faktor pengenceran jika fraksi tersebut diencerkan; 20,08 adalah serapan jenis 4-epianhidrotetrasiklin pada 438 nm. Dari jumlah 4-epianhidrotetrasiklin yang terdapat dalam fraksi-fraksi, hitung persentase 4-epianhidrotetrasiklin terhadap tetrasiklin hidroklorida dalam *Larutan uji*.

#### UJI BATAS ALUMINIUM <315>

Prosedur ini digunakan untuk menjelaskan bahwa jumlah aluminium (Al) tidak boleh melebihi batas yang tertera pada masing-masing monografi dari zat yang tertera pada etiket yang dimaksudkan untuk digunakan dalam hemodialisa. [Catatan *Larutan Baku dan Larutan Uji* dapat dimodifikasi jika diperlukan, untuk mendapatkan larutan yang sesuai yang dapat digunakan rentang kerja dari peralatan.]

**Pengencer Asam Nitrat** Masukkan 40 ml *asam nitrat P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan Baku** Rendam sejumlah kawat aluminium dengan *asam klorida 6 N* pada  $80^{\circ}$  selama beberapa menit. Timbang saksama sejumlah 100 mg kawat tersebut dan larutkan dalam campuran 10 ml *asam klorida P* dan 2 ml *asam nitrat P* melalui pemanasan pada  $80^{\circ}$  selama lebih kurang 30 menit. Lanjutkan pemanasan sampai volume lebih kurang 4 ml. Dinginkan sampai suhu ruang, dan tambahkan 4 ml air. Uapkan larutan sampai sekitar 2 ml dengan pemanasan. Dinginkan, dan pindahkan larutan ini dengan sejumlah air, ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda, campur. Pipet 10 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml kedua, encerkan dengan air sampai tanda, campur. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml ketiga, encerkan dengan air sampai tanda. Kadar aluminium dalam larutan baku sekitar 1,0  $\mu\text{g}$  per ml. Jika larutan baku lain diperlukan, pipet 1,0; 2,0 dan 4,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml terpisah, encerkan dengan

*Pengencer asam nitrat* sampai tanda, campur. Larutan ini mengandung berturut-turut lebih kurang 0,01; 0,02 dan 0,04 µg Al per ml.

**Larutan Uji** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, timbang saksama sejumlah zat seperti tertera dalam masing-masing monografi, ke dalam labu tentukur plastik 100-ml, tambahkan 50 ml air, dan sonikasi selama 30 menit. Tambahkan 4 ml *asam nitrat P*, encerkan dengan air sampai tanda.

**Prosedur** Ukur serapan *Larutan Baku* dan *Larutan Uji* pada garis emisi aluminium 309,3 nm dengan Spektrofotometer Serapan Atom yang sesuai seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya* <1191> dilengkapi dengan lampu "hollow cathode" aluminium dan tanpa nyala dari pemanasan listrik, menggunakan *asam nitrat P* sebagai blangko. Buat kurva yang menghubungkan antara serapan *Larutan baku* dengan kadar Al, dalam µg per ml, tarik garis lurus yang paling mendekati 3 titik. Dari kurva yang diperoleh, tentukan kadar Al, dalam µg per ml *Larutan Uji*. Hitung kadar Al pada sampel yang digunakan, dalam µg per g, dengan mengalikan nilai yang diperoleh dengan 100/W, W adalah bobot, dalam g, dari zat yang digunakan untuk membuat *Larutan Uji*.

#### UJI BATAS ARSEN <321>

Prosedur ini disusun untuk mendeteksi adanya cemaran arsenik dengan mengubah senyawa arsenik dalam suatu senyawa pada uji terhadap arsen, kemudian dilewatkan melalui larutan perak dietilditiokarbamat untuk membentuk kompleks berwarna merah. Warna merah yang terbentuk dibandingkan, baik secara visual atau secara spektrofotometri terhadap warna yang dihasilkan dari cara yang sama menggunakan kontrol yang mengandung sejumlah arsen setara dengan batasan yang diberikan dalam masing-masing monografi. Batas dinyatakan sebagai arsen (As), kadar arsenik tidak melebihi batas yang tertera dalam masing-masing monografi.

Kedua metode yang diberikan, berbeda hanya dalam perlakuan awal terhadap zat uji dan standar. Pada umumnya digunakan *Metode I* untuk bahan anorganik, *Metode II* untuk bahan organik.

**Peralatan** (Lihat gambar) terdiri dari sebuah arsen generator (a), dilengkapi dengan unit pembersih (c) dan tabung penyerap (e) dengan sambungan terasah atau dengan dasar bola gelas dan soket penyambung (b dan d) diantara unit-unit. Walaupun demikian, alat lain yang sesuai, menggunakan prinsip alat yang disebutkan dan diilustrasikan dapat digunakan.

**Larutan persediaan arsen trioksida** Timbang saksama 132,0 mg *arsen trioksida P*, yang sebelumnya sudah dikeringkan pada 105° selama 1 jam, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml dan larutkan ke dalam 5 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 5) Netralkan larutan dengan *asam sulfat 2 N*, tambahkan kembali 10 ml *asam*

*sulfat 2 N* kemudian tambahkan air yang baru dididihkan dan didinginkan sampai tanda, campur.

**Larutan baku arsen** Pipet 10 ml *Larutan persediaan arsen trioksida* ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 10 ml *asam sulfat 2 N*, kemudian tambahkan air yang baru dididihkan kemudian didinginkan sampai batas dan campur. Setiap ml *Larutan baku arsen* mengandung setara dengan 1 µg Arsen (As). Simpan larutan ini ke dalam wadah kaca dan gunakan dalam waktu 3 hari.

#### Metode I

**Larutan baku** Pipet 3,0 ml *Larutan baku arsen* ke dalam labu generator dan encerkan dengan air sampai 35 ml.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, pindahkan ke dalam labu generator sejumlah zat uji, dalam g, dihitung dengan rumus:

$$\frac{3,0}{L}$$

dimana L adalah batas arsen dalam ppm. Larutkan dalam air dan encerkan dengan air sampai 35 ml.

**Prosedur** Perlakukan sama *Larutan baku* dan *Larutan uji* seperti berikut: tambahkan 20 ml *asam sulfat 7 N*, 2 ml *kaliun iodida LP*, 0,5 ml *timah(II) klorida pekat LP* dan 1 ml *isopropanol P* dan campur. Diamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Tambahkan tabung slaber (c) dengan 2 gumpal kapas yang sudah dicelupkan ke dalam larutan *timbal(II) asetat P*. Hilangkan kelebihan larutan dengan diperas dan keringkan dengan vakum pada suhu kamar. Buat jarak 2 mm diantara kedua gumpalan. Lumas kedua sambungan b dan d dengan pelumas yang sesuai diperuntukkan untuk pelarut organik, dan sambung unit pembersih ke dalam tabung penyerap (e). Pindahkan 3,0 ml *perak dietilditiokarbamat LP* ke dalam tabung penyerap. Tambahkan 3,0 g seng granul (20 mesh) ke dalam campuran di dalam labu, segera sambung unit pembersih dan biarkan pelepasan hidrogen dan pengembangan warna terjadi pada suhu ruang selama 45 menit. Putar labu secara perlahan dengan antara 10 menit. Lepaskan tabung penyerap dari generator dan unit pembersih dan pindahkan larutan absorpsi ke dalam sel absorpsi 1 cm. Warna merah yang dihasilkan oleh *Larutan uji* tidak lebih intensif dari yang dihasilkan *Larutan baku*. Bila diperlukan atau diinginkan, ukur absorpsi pada panjang gelombang serapan maksimum antara 535 - 540 nm menggunakan spektrofotometer yang sesuai atau kolorimeter, menggunakan *perak dietilditiokarbamat LP* sebagai blangko.

**Zat Kimia Pengganggu** Logam atau garam logam seperti kromium, kobalt, tembaga, raksa, molibdenum, nikel, valadium dan perak dapat mengganggu pelepasan arsen. Antimon dalam bentuk sibern menghasilkan pengganggu positif pada pengembangan warna menggunakan *perak dietilditiokarbamat LP*. Bila diperkirakan terdapat antimon, warna merah yang



dihasilkan dalam 2 larutan *perak dietildiokarbamat* dapat dibandingkan pada panjang gelombang serapan maksimum antara 535 nm dan 540 nm menggunakan kolorimeter yang sesuai, dimana pada panjang gelombang ini gangguan yang disebabkan oleh stibin dapat diabaikan.

## Metode II

Catatan:

- (1) *Perhatian Lakukan dengan hati-hati. Beberapa zat dapat bereaksi dengan ledakan yang membahayakan bila dicampur dengan hidrogen peroksida.*
- (2) *Apabila terdapat campuran mengandung halogen gunakan suhu lebih rendah pada saat memanaskan zat uji dengan asam sulfat P, hindari mendidihnya campuran dan tambahkan hidrogen peroksid dengan hati-hati sebelum terjadi pengarangan, untuk mencegah hilangnya arsen trivalen.*
- (3) *Apabila zat uji bereaksi dengan asam sulfat 5 ml sangat cepat, dan sudah terjadi pengarangan pada penambahan 5 ml asam sulfat P sebelum pemanasan, sebagai pengganti gunakan 10 ml asam sulfat encer dingin (1 dalam 2) dan tambahkan beberapa tetes hidrogen peroksida P sebelum pemanasan.*

**Larutan baku** Pipet 3,0 ml *Larutan baku arsen* ke dalam labu generator, tambah 2 ml asam sulfat, campur dan tambahkan sejumlah 30% *hidrogen peroksida P* yang digunakan dalam pembuatan *Larutan uji*. Panaskan campuran hingga terjadi asap putih tebal, dinginkan tambahkan perlahan-lahan 10 ml air, dan panaskan lagi sampai terjadi asap putih tebal. Ulangi prosedur dengan menggunakan 10 ml air untuk menghilangkan sisa hidrogen peroksida. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai 35 ml.

**Larutan uji** Jika tidak dinyatakan lain dalam masing-masing monografi masukkan ke dalam labu generator sejumlah zat uji, dalam g, dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{3,0}{L}$$

dimana L adalah batasan arsen dalam ppm. Tambahkan 5 ml *asam sulfat P* dan beberapa manik kaca, ekstraksi dalam lemari asam, lebih baik menggunakan lempeng pemanas dan pada suhu tidak lebih dari 120° hingga terjadi pengarangan. (Mungkin diperlukan asam sulfat berlebih untuk membasahkan zat uji secara sempurna, tetapi jumlah volume yang ditambahkan tidak lebih 10 ml). Tambahkan hati-hati tetes demi tetes 30% *hidrogen peroksida P* biarkan reaksi terjadi dan panaskan kembali diantara penetasan. (Tambahkan dengan sangat hati-hati beberapa tetes pertama dengan mencampur secukupnya, untuk menghindari reaksi cepat). Hentikan pemanasan bila terbentuk busa berlebih. Bila reaksi berkurang, panaskan hati-hati, goyangkan labu sesekali untuk mencegah zat melekat pada dinding labu yang kontak dengan pemanasan. Pertahankan kondisi oksidasi setiap

saat selama ekstraksi dengan menambahkan sedikit demi sedikit *larutan hidrogen peroksida P*, jika campuran menjadi cokelat atau gelap. Lanjutkan ekstraksi hingga zat organik terurai, naikan suhu lempeng pemanas secara bertahap hingga asap dari belerang trioksida dibebaskan dan larutan menjadi tidak berwarna atau berwarna kuning pucat. Dinginkan, tambahkan hati-hati 10 ml air, campur dan uapkan sekali lagi hingga terjadi asap tebal. Ulangi prosedur ini untuk menghilangkan sisa hidrogen peroksida. Dinginkan, tambahkan hati-hati 10 ml air, bilas dinding labu dengan beberapa ml air, dan encerkan dengan air hingga 30 ml.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Metode I*

**Zat Kimia Pengganggu** Lakukan seperti tertera pada *Metode I*.

## UJI BATAS BESI <331>

Uji batas besi digunakan untuk menunjukkan bahwa kandungan besi, dalam bentuk besi(III) atau besi(II) tidak lebih dari batas besi yang tertera pada masing-masing monografi. Penetapan dilakukan dengan membandingkan secara visual dengan larutan yang dibuat khusus dari *Larutan baku besi*.

### Pereaksi khusus

**Larutan baku besi** Larutkan 863,4 mg *besi(III) ammonium sulfat P*  $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$  dalam air, tambahkan 10 ml *asam sulfat 2 N* dan encerkan dengan air hingga 100,0 ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 10 ml *asam sulfat 2 N*, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan ini mengandung 10 µg Fe.

**Larutan ammonium tiosianat** Larutkan 30 g *ammonium tiosianat P* dalam air hingga 100 ml.

**Larutan baku** Pipet 1 ml *larutan baku besi* (10 µg Fe) ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, encerkan dengan air hingga 45 ml, tambahkan 2 ml *asam klorida P* dan campur.

**Larutan uji** Masukkan sejumlah larutan uji seperti tertera pada masing-masing monografi ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, bila perlu encerkan dengan air hingga 45 ml; atau larutkan sejumlah g zat dalam air hingga 45 ml yang dihitung dengan rumus:

$$\frac{1,0}{(1000L)}$$

L adalah batas besi dalam persen. Tambahkan 2 ml *asam klorida P* dan campur.

**Prosedur** ke dalam masing-masing tabung yang berisi *Larutan baku* dan *Larutan uji*, tambahkan 50 mg *amonium peroksida sulfat P* dan 3 ml *Larutan amonium*

*tiosianat* dan campur: warna yang terjadi pada *Larutan uji* tidak lebih gelap dari *Larutan baku*

## UJI BATAS ETILEN OKSIDA DAN DIOKSAN <342>

Prosedur berikut ini digunakan untuk menetapkan jumlah residu etilen oksida dan dioksan dalam sediaan yang dibuat dari etilen oksida. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, gunakan *Metode I*.

### Metode I

[Peringatan Etilen oksida adalah zat toksik dan mudah terbakar. Siapkan larutan ini dengan hati-hati di dalam lemari asam berventilasi baik. Lindungi tangan dan wajah dengan memakai sarung tangan polietilen dan masker yang sesuai. Simpan semua larutan dalam wadah kedap udara, pada suhu antara 4° - 8°.]

[Catatan Sebelum menggunakan polietilen glikol 200 P pada pengujian ini, hilangkan semua komponen mudah menguap dengan menempatkan 500 ml polietilen glikol 200 P dalam labu alas bulat 1000 ml dan sambungkan labu dengan penguap berputar, pertahankan pada suhu 60° dan vakum 10 - 20 mmHg selama 6 jam.]

**Larutan Asetaldehida** Asetaldehida P 10 µg per ml  
[Catatan Siapkan segera sebelum digunakan.]

**Larutan persediaan etilen oksida** Buat larutan etilen dioksida 2,5 mg per g yang disiapkan dengan cara sebagai berikut: Tara Erlenmeyer bersumbat kaca, tambahkan 50 ml polietilen glikol 200 P, dan timbang kembali Erlenmeyer. Masukkan 5 ml etilen oksida P cair dalam gelas piala 100 ml dinginkan dalam campuran natrium klorida P dan es (1:3). Masukkan 300 µl (250 mg) etilen oksida cair P pada polietilen glikol 200 P, aduk perlahan-lahan sampai tercampur. Sumbat Erlenmeyer, timbang kembali labu dan tetapkan jumlah etilen dioksida yang diabsorpsi dengan adanya perbedaan berat. Atur berat campuran dengan menambahkan polietilen glikol 200 P sampai 100,0 g, sumbat Erlenmeyer dan goyang hati-hati sampai tercampur. [Catatan Isi botol pendingin bertekanan dengan etilen oksida cair dan simpan dalam lemari pembeku bila tidak digunakan. Gunakan sepotong kecil film polietilen untuk melindungi cairan dari kontak dengan karet penutup. Gunakan peralatan yang telah didinginkan bila diperlukan. Buat larutan persediaan segera sebelum digunakan, dan simpan dalam lemari pendingin.]

**Larutan etilen oksida** Tara Erlenmeyer bersumbat kaca dan dinginkan dalam lemari pendingin. Tambahkan 35 ml polietilen glikol 200 P, dan timbang kembali labu. Masukkan 1 g Larutan persediaan etilen dioksida dingin ke dalam Erlenmeyer bersumbat. Atur berat campuran dengan menambahkan polietilen glikol 200 P sampai 50,0 g, sumbat kembali, goyang hati-hati sampai

tercampur. Pindahkan 10 g larutan ini pada labu tentukur 50-ml. Tambahkan 30 ml air dan campur. Encerkan dengan air sampai tanda, dan campuran yang diperoleh mengandung etilen oksida lebih kurang 10 µg per ml. [Catatan Gunakan peralatan yang telah didinginkan jika diperlukan. Buat segera sebelum digunakan.]

**Larutan dioksan** 500 µg per ml dioksan P.

**Larutan Baku A** Masukkan 0,1 ml Larutan etilen oksida ke dalam vial 10-ml "headspace" bertekanan. [Catatan Vial berukuran lain misalnya vial 22-ml "headspace" bertekanan dapat digunakan, tergantung kondisi operasional. Akan tetapi harus digunakan "headspace" berukuran sama untuk Larutan baku A, Larutan baku B dan Larutan uji.] Tambahkan 0,1 ml Larutan Asetaldehida dan 0,1 ml Larutan dioksan, tutup vial dan campur.

**Larutan Baku B** Timbang 1,0 g zat uji, masukkan ke dalam vial 10-ml "headspace" bertekanan dan tambahkan 0,1 ml Larutan etilen oksida; 0,1 ml Larutan dioksan dan 1,0 ml N,N-dimetilasetamida P. Tutup vial dan campur.

**Larutan uji** Timbang 1,0 g zat uji masukkan ke dalam vial 10-ml "headspace" bertekanan dan tambahkan 1,0 ml N,N-dimetilasetamida P dan 0,2 ml air. Tutup vial dan campur.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas "headspace" dilengkapi detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler terbuat dari kaca atau kuarsa 30 m x 0,32 mm, berisi bahan pengisi fase G1 dengan tebal lapisan 1,0 µm. Gas pembawa helium P dipertahankan pada kecepatan linier 20 cm per detik. Suhu injektor dan detektor dipertahankan berturut-turut pada suhu 150° dan 250°. Suhu kolom diprogram sebagai berikut:

Suhu awal (°)	Kenaikan suhu (° per menit)	Suhu akhir (°)	Waktu dipertahankan pada suhu akhir (menit)
50	-	50	5
50	5	180	-
180	30	230	5

Lakukan kromatografi terhadap Larutan baku A, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara asetaldehida dan etilen oksida tidak kurang dari 2,0; perbandingan "signal to noise" tidak kurang dari 5,0 ditetapkan dari puncak dioksan; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 15,0%. [Catatan Waktu retensi relatif asetaldehida dan etilen oksida berturut-turut adalah 0,94 dan 1,0.]

**Sistem "headspace sampler"** Atur suhu "transfer line" 150°, suhu pengaturan tekanan 1 menit dan waktu injeksi

12 detik. Waktu untuk kesetimbangan suhu selama 45 menit dan suhu kesetimbangan masing-masing: 70° untuk Larutan baku A, 90° untuk Larutan baku B dan 90° untuk Larutan uji.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 ml "headspace" gas dengan "split ratio" 20:1) Larutan baku B dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. [Catatan Waktu retensi relatif untuk etilen oksida dan dioksan berturut-turut adalah 1,0 dan 2,5.] Hitung jumlah etilen dioksida dalam bpj, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{A_E x r_U}{[(r_S x W_U) - (r_U x W_S)]}$$

$A_E$  adalah jumlah etilen oksida dalam  $\mu\text{g}$  yang ditambahkan dalam Larutan baku B;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respon puncak etilen oksida dari Larutan uji dan Larutan baku B;  $W_U$  adalah bobot zat dalam g yang digunakan untuk membuat Larutan uji;  $W_S$  adalah bobot dalam g yang digunakan untuk membuat Larutan baku B. Hitung jumlah dioksan dalam bpj, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{A_D x r_U}{[(r_S x W_U) - (r_U x W_S)]}$$

$A_D$  adalah jumlah dioksan dalam  $\mu\text{g}$  yang ditambahkan dalam Larutan baku B;  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respon puncak dioksan dari Larutan uji dan Larutan baku B;  $W_U$  adalah bobot zat dalam g yang digunakan untuk membuat Larutan uji;  $W_S$  adalah bobot zat dalam g yang digunakan untuk membuat Larutan baku B.

### Metode II

**Larutan baku etilen dioksida** Encerkan 0,5 ml etilen oksida dalam metilen klorida P (50 mg per ml)<sup>1</sup> dengan air sampai 50,0 ml. [Catatan Larutan stabil selama 3 bulan jika disimpan dalam vial politetrafluoroetilen (politef)-dengan tutup berlapis membran silikon pada suhu -20°.] Biarkan sampai mencapai suhu ruang. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai 250,0 ml hingga diperoleh larutan dengan kadar etilen dioksida 2  $\mu\text{g}$  per ml. [Catatan Buat segera sebelum digunakan.]

**Larutan baku dioksan** 0,05  $\mu\text{l}$  per ml dioksan.

**Larutan baku asetaldehida** Larutan mengandung asetaldehida 10  $\mu\text{g}$  per ml [Catatan Buat segera sebelum digunakan.]

**Larutan Resolusi** Pipet 2 ml Larutan baku asetaldehida dan 2 ml Larutan baku etilen oksida ke dalam vial 10-ml "headspace". Segera tutup vial dengan

membran silikon berlapis politef dan perkuat dengan tutup luar aluminium, campur hati-hati.

**Larutan baku A** Buat larutan etilen oksida dengan kadar 0,48  $\mu\text{g}$  per ml dari Larutan baku etilen oksida dan dioksan dengan kadar 0,005  $\mu\text{g}$  per  $\mu\text{l}$  dari Larutan baku dioksan.

**Larutan baku B** Timbang 1,0 g zat, masukkan ke dalam vial 10-ml "headspace". Tambahkan 2,0 ml Larutan baku A. Segera tutup vial dengan membran silikon berlapis politef dan perkuat dengan tutup luar aluminium, campur hati-hati.

**Larutan uji** Timbang 1,0 g zat, masukkan ke dalam vial 10-ml "headspace". Tambahkan 2,0 ml air. Segera tutup vial dengan membran silikon berlapis politef dan perkuat dengan tutup luar aluminium, campur hati-hati.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas "headspace" dilengkapi detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler terbuat dari leburan silika 0,53 mm x 50 m, berisi bahan pengisi fase G27 dengan tebal lapisan 5,0  $\mu\text{m}$ . Gas pembawa helium P dipertahankan pada laju alir 4 mm per menit. Sistem "headspace sampler" waktu untuk kesetimbangan suhu selama 30 menit dan suhu kesetimbangan 80°. Suhu injektor dan detektor dipertahankan berturut-turut pada suhu 85° dan 250°. Suhu kolom diprogram sebagai berikut: suhu awal dipertahankan pada 70° selama 10 menit, kemudian diatur kecepatan kenaikan suhu lebih kurang 10° per menit sampai 250° dan pertahankan suhu tersebut selama 5 menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan resolusi, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara asetaldehida dan etilen oksida tidak kurang dari 2,0 [Catatan Waktu retensi relatif asetaldehida dan etilen oksida berturut-turut adalah 0,9 dan 1,0.]

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 ml "headspace" gas dengan "split ratio" 3,5:1) Larutan baku B dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. [Catatan Waktu retensi relatif untuk etilen oksida dan dioksan berturut-turut adalah 1,0 dan 1,9.] Hitung jumlah etilen dioksida dalam bpj, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{C_E x V x r_U}{[(r_S x W_U) - (r_U x W_S)]}$$

$C_E$  adalah kadar etilen oksida dalam  $\mu\text{g}$  per ml Larutan baku A;  $V$  adalah volume Larutan baku A yang ditambahkan pada Larutan baku B (2,0 ml);  $r_U$  dan  $r_S$  berturut-turut adalah respon puncak etilen oksida Larutan uji dan Larutan baku B;  $W_U$  adalah bobot dalam g zat yang digunakan untuk membuat Larutan uji;  $W_S$  adalah bobot dalam g zat yang digunakan untuk membuat

Larutan baku B. Hitung jumlah dioksan dalam bpj, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{C_D \times V \times \rho \times F \times r_U}{[(r_S \times W_U) - (r_U \times W_S)]}$$

$C_D$  adalah kadar dioksan dalam  $\mu\text{l}$  per ml Larutan baku A;  $V$  adalah volume Larutan baku A yang ditambahkan pada Larutan baku B (2,0 ml);  $\rho$  adalah berat jenis dioksan (1,03 g per ml = 1,03  $\mu\text{g}$  per  $\mu\text{l}$ );  $F$  adalah faktor konversi (1000  $\mu\text{g}$  per mg);  $r_U$  respons puncak dioksan dari Larutan uji;  $r_S$  adalah respons puncak etilen oksida dari Larutan baku B;  $W_U$  adalah bobot zat dalam g yang digunakan untuk membuat Larutan uji dan  $W_S$  adalah bobot zat dalam g yang digunakan untuk membuat Larutan baku B.

### UJI BATAS KALSIMUM, KALIUM DAN NATRIUM <351>

Fotometer nyala khusus dilengkapi dengan detektor tabung foto pelipat ganda untuk penetapan kalsium atau natrium, detektor tabung cahaya peka warna merah untuk penetapan kalium, mono-kromator, celah keluar yang mudah diatur, alat kendali yang peka, dan pembakar oksiasetilena. Pembakar oksihidrogen diperlukan untuk penetapan kalium di dalam campuran dengan kalsium jumlah besar.

Larutan baku ion kalsium Masukkan 249,7 mg kalsium karbonat P yang telah dikeringkan pada suhu 300° selama 3 jam dan didinginkan dalam eksikator selama 2 jam, ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam campuran 20 ml air dan 5 ml asam klorida 3 N, encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 1,00 mg ion kalsium (Ca).

Larutan baku ion kalium Masukkan 190,7 mg kalium klorida P yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 1,00 mg ion kalium (K).

Larutan baku ion natrium Masukkan 254,2 mg natrium klorida P yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung 1,00 mg ion natrium (Na).

Larutan baku Masukkan 50 ml alikot Larutan uji ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan sejumlah volume Larutan baku ion yang tertera pada masing-masing monografi, encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan larutan ini secara kuantitatif dengan air secukupnya, untuk mendapatkan kadar ion yang diuji sesuai dengan daerah pengukuran yang ideal pada fotometer nyala yang digunakan.

Larutan uji Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, masukkan 2,000 g zat uji ke dalam labu tentukur 100-ml, dinginkan dalam tangas es, tambahkan 5 ml asam nitrat P, goyang sampai larut dan

biarkan hangat sampai suhu kamar. Jika perlu panaskan hati-hati untuk mendapatkan campuran yang jernih atau hanya sedikit keruh. Dinginkan sampai suhu kamar, jika perlu, encerkan dengan air sampai tanda. Jika perlu, saring atau sentrifus untuk mendapatkan larutan yang jernih.

Atur fotometer nyala sampai diperoleh pembacaan mendekati transmitans 100% dengan Larutan baku pada panjang gelombang yang memberikan emisi maksimum yang sesuai dengan panjang gelombang yang spesifik seperti tertera pada daftar di bawah. Gunakan lebar celah keluar yang sesuai, sedekat mungkin dengan lebar pita yang ditentukan. Rekam transmitans yang dibaca (S).

Encerkan alikot Larutan uji dengan air untuk mendapatkan kadar larutan yang sesuai dengan Larutan baku. Tanpa mengubah pengaturan kondisi fotometer nyala, tetapkan emisi larutan sebagai persentase transmisi, rekam pembacaan (T). Pengaturan kembali hanya pada monokromator, ke panjang gelombang yang ditentukan untuk penetapan latar belakang. Tetapkan emisi larutan pada panjang gelombang tersebut sebagai persentase transmisi, dan rekam pembacaan (B).

Ion	Panjang gelombang (nm)		Lebar pita (nm)
	Spesifik	Latar belakang	
Kalsium	422,7	430	0,8
Kalium	766,5	750	12
Natrium	589	580	0,8

Pengujian ini dinyatakan memenuhi syarat, jika harga  $T$  kurang  $B$ , lebih kecil dari atau sama dengan  $S$  kurang  $T$ .

### UJI BATAS KLORIDA DAN SULFAT <361>

Uji batas klorida dan sulfat berikut adalah prosedur umum untuk menetapkan batas klorida dan sulfat yang tertera pada masing-masing monografi.

Lakukan pengujian dan perbandingan menggunakan sepasang tabung kaca dengan diameter sama dan disetarakan sebaik mungkin seperti tertera pada perbandingan visual dalam Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>. Gunakan jumlah dan jenis pereaksi yang sama pada Larutan uji maupun Larutan pembanding yang mengandung sejumlah volume tertentu klorida atau sulfat. Jika setelah diasamkan larutan tidak jernih, saring melalui kertas saring yang tidak memberikan reaksi terhadap klorida dan sulfat. Tambahkan sejumlah larutan pengendap perak nitrat LP atau barium klorida LP sejumlah yang diperlukan pada Larutan uji dan Larutan pembanding pada saat yang bersamaan.

Jika pada masing-masing monografi, pengujian dilakukan terhadap volume tertentu Larutan uji, dan batas klorida atau sulfat sesuai dengan atau kurang dari 0,20 ml asam klorida 0,02 N atau asam sulfat 0,02 N, lakukan pengujian tanpa pengenceran lebih lanjut. Dalam hal ini, pertahankan volume Larutan pembanding sama seperti

pada *Larutan uji*. Untuk pengujian pada garam logam berat, yang pada umumnya bereaksi asam, hilangkan penambahan asam dan larutan tidak boleh dinetralkan. Larutkan garam bismuth dalam beberapa ml air dan 2 ml *asam nitrat P* sebelum penambahan larutan pengendap.

**Klorida** Larutkan sejumlah zat uji dalam 30 - 40 ml air, atau, jika zat uji adalah larutan, tambahkan air secukupnya hingga jumlah volume 30 - 40 ml, dan jika perlu netralkan larutan dengan *asam nitrat P* terhadap *kertas lakmus P*. Tambahkan 1 ml *asam nitrat P* dan 1 ml *perak nitrat LP*, dan tambahkan air secukupnya hingga 50 ml. Campur, diamkan larutan 5 menit terlindung cahaya matahari langsung. Bandingkan kekeruhan yang terjadi dengan larutan pembanding yang mengandung sejumlah volume *asam klorida 0,020 N* seperti tertera pada monografi.

**Sulfat** Larutkan sejumlah zat uji dalam 30 - 40 ml air, atau, jika zat uji adalah larutan, tambahkan air secukupnya hingga jumlah volume 30 - 40 ml, dan jika perlu netralkan larutan dengan *asam klorida P* terhadap *kertas lakmus P*. Tambahkan 1 ml *asam klorida 3 N*, 3 ml *barium klorida LP* dan air secukupnya hingga 50 ml. Campur, diamkan larutan 10 menit. Bandingkan kekeruhan yang terjadi dengan larutan pembanding yang mengandung sejumlah volume *asam sulfat 0,020 N* seperti tertera pada monografi.

#### UJI BATAS DIMETILANILIN <362>

Uji batas berikut digunakan sebagai prosedur umum, bila dinyatakan pada masing-masing monografi untuk menetapkan dimetilanilin (sebagai penangkap asam klorida yang mungkin digunakan selama proses) dalam suatu zat secara kromatografi gas.

**Larutan baku internal** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, buat larutan naftalena dalam *sikloheksana P* dengan kadar lebih kurang 50 µg per ml.

**Larutan baku** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, timbang saksama lebih kurang 50 mg N,N-dimetilanilin masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 25 ml *asam klorida 1 N*, goyangkan hingga larut, encerkan dengan air sampai tanda dan campur. Masukkan 5,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan air sampai tanda dan campur. Pipet 1 ml larutan masukkan ke dalam tabung sentrifuga yang sesuai, tambahkan 5,0 ml *natrium hidroksida 1 N* dan 1,0 ml *Larutan baku internal*, kocok kuat selama 1 menit, dan sentrifus. Gunakan beningan sebagai *Larutan baku*.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, timbang saksama lebih kurang 1 g zat uji, masukkan ke dalam tabung sentrifuga yang sesuai, tambahkan 5,0 ml *natrium hidroksida 1 N* dan 1,0 ml

*Larutan baku internal*, kocok kuat selama 1 menit, dan sentrifus. Gunakan beningan sebagai *Larutan uji*.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom 2 mm x 2 m berisi bahan pengisi 3 % fase cair G3 pada partikel penyangga S1A tersilanisasi, pertahankan suhu pada 120°. Gunakan *nitrogen P* sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 30 ml per menit.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (dengan rentang 2 - 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur luas puncak utama. Perbandingan respons puncak dimetilanilin terhadap puncak naftalena yang diperoleh dari *Larutan uji* tidak lebih besar dari *Larutan baku* (0,002 %).

#### UJI BATAS LOGAM BERAT <371>

Pengujian ini dimaksudkan untuk menunjukkan bahwa cemaran logam yang dengan ion sulfida menghasilkan warna pada kondisi penetapan, tidak melebihi batas logam berat yang tertera pada masing-masing monografi, dinyatakan dalam % (bobot) timbal dalam zat uji, ditetapkan dengan membandingkan secara visual seperti tertera pada perbandingan visual dalam *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>* dengan pembanding *Larutan baku timbal*. [Catatan *Senyawa-senyawa yang memberikan respons pada uji ini adalah timbal, raksa, bismut, arsen, antimon, timah, kadmium, perak, tembaga, dan molibdenum*.]

Tetapkan jumlah logam berat menggunakan *Metode I*, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi. *Metode I* digunakan untuk zat yang pada kondisi penetapan memberikan larutan jernih dan tidak berwarna pada kondisi uji. *Metode III* digunakan untuk zat yang pada kondisi *Metode I* tidak menghasilkan larutan jernih dan berwarna, atau senyawa yang karena sifatnya mengganggu pengendapan logam oleh ion sulfida atau minyak lemak dan minyak menguap. *Metode V* suatu metode digesti basah, hanya digunakan bila *Metode I* dan *Metode III* tidak dapat digunakan.

#### Pereaksi khusus

**Larutan persediaan timbal(II) nitrat** Larutkan 159,8 mg *timbal(II) nitrat P* dalam 100 ml air yang telah ditambah 1 ml *asam nitrat P*, kemudian encerkan dengan air hingga 1000,0 ml. Buat dan simpan larutan ini dalam wadah kaca yang bebas dari garam-garam timbal yang larut.

**Larutan baku timbal** Buat larutan segar dengan mengencerkan 10,0 ml *Larutan persediaan timbal(II) nitrat* dengan air hingga 100,0 ml. Tiap ml *Larutan baku*

timbang setara dengan 10 µg timbal. Larutan pembanding yang dibuat dari 100 µl Larutan baku timbal dalam 1 gram zat uji setara dengan 1 bagian timbal per sejuta.

### Metode I

**Dapar asetat pH 3,5** Larutkan 25,0 g amonium asetat P dalam 25 ml air dan tambahkan 38,0 ml asam klorida 6 N. Jika perlu atur pH hingga 3,5 dengan penambahan amonium hidroksida 6 N atau asam klorida 6 N, encerkan dengan air hingga 100 ml, campur.

**Larutan baku** Pipet 2 ml Larutan baku timbal (20 µg Pb) ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, dan encerkan dengan air hingga 25 ml. Atur pH antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N atau amonium hidroksida 6 N, encerkan dengan air hingga 40 ml, campur.

**Larutan uji** Ke dalam tabung pembanding warna 50 ml masukkan 25 ml Larutan uji seperti tertera pada masing-masing monografi atau menggunakan sejumlah volume asam jika dinyatakan dalam masing-masing monografi, larutkan dan encerkan dengan air hingga 25 ml. Gunakan sejumlah zat uji dalam g, yang dihitung dengan rumus :

$$\frac{2,0}{1000L}$$

L adalah batas Logam berat dalam persen. Atur pH antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N atau amonium hidroksida 6 N, encerkan dengan air hingga 40 ml, campur.

**Larutan pembanding** Masukkan 25 ml larutan yang dibuat sama seperti Larutan uji ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, dan tambahkan 2,0 ml Larutan baku timbal. Atur pH antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N atau amonium hidroksida 6 N, encerkan dengan air hingga 40 ml, campur.

**Prosedur** Ke dalam tiap tabung dari 3 tabung yang masing-masing berisi Larutan baku, Larutan uji dan Larutan pembanding tambahkan 2 ml dapar asetat pH 3,5 kemudian tambahkan 1,2 ml tioasetamida LP, encerkan dengan air hingga 50 ml, campur, diamkan selama 2 menit. Amati permukaan dari atas pada dasar putih: Warna yang terjadi pada Larutan uji tidak lebih gelap dari warna yang terjadi pada Larutan baku dan warna yang terjadi pada Larutan pembanding sama atau lebih gelap dari warna yang terjadi pada Larutan baku [Catatan Bila warna pada larutan pembanding lebih muda dari warna larutan baku gunakan Metode III sebagai pengganti Metode I untuk zat uji.]

### Metode II

**Larutan uji** 12 ml larutan zat uji seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Larutan baku** Campur 10 ml Larutan baku timbal 1 bpj atau 2 bpj sesuai yang ditetapkan dengan 2 ml Larutan uji.

**Larutan blangko** Campur 10 ml air dengan 2 ml Larutan uji.

**Prosedur** Ke dalam tiap larutan tambahkan 2 ml dapar asetat pH 3,5 dan campur. Tambah 1,2 ml tioasetamida LP, campur dengan cepat dan diamkan 2 menit. Amati permukaan dari atas pada dasar putih: uji tidak absah bila Larutan baku tidak menunjukkan warna cokelat dibanding Larutan blangko, warna cokelat yang terjadi pada Larutan uji tidak lebih intensif dari warna Larutan baku. Jika hasil yang diperoleh sulit untuk disimpulkan, saring larutan melalui penyaring membran (ukuran pori 3 µm); lihat gambar alat tanpa prefilter. Lakukan penyaringan secara lambat dan menyeluruh menggunakan tekanan sedang dan konstan. Bandingkan bercak pada penyaring di antara ketiga larutan.

### Metode III

[Catatan Metode ini tidak mencakup merkuri.]

**Dapar asetat pH 3,5** Buat seperti tertera pada Metode I.

**Larutan baku** Buat seperti tertera pada Metode I.

**Larutan uji** Gunakan sejumlah zat uji dalam g, yang dihitung dengan rumus :

$$\frac{2,0}{1000L}$$

L adalah batas Logam berat dalam persen. Masukkan sejumlah zat yang telah ditimbang ke dalam krus yang sesuai, tambahkan asam sulfat P secukupnya untuk membasahi, dan pijarkan hati-hati pada suhu rendah hingga mengarang. Selama pengarangan krus tidak boleh ditutup rapat. Pada bagian yang telah mengarang, tambahkan 2 ml asam nitrat P dan 5 tetes asam sulfat P, panaskan hati-hati sampai asap putih tidak terbentuk lagi. Pijarkan, sebaiknya dalam tanur, pada suhu 500° - 600°, sampai arang habis terbakar. Dinginkan, tambahkan 4 ml asam klorida 6 N, tutup, digesti di atas tangas uap selama 15 menit, buka dan uapkan perlahan-lahan di atas tangas uap hingga kering. Basahkan sisa dengan 1 tetes asam klorida P, tambahkan 10 ml air panas, dan digesti selama 2 menit. Tambahkan amonium hidroksida 6 N tetes demi tetes, hingga larutan bereaksi basa terhadap kertas lakmus, encerkan dengan air hingga 25 ml, dan atur pH antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N, menggunakan kertas indikator pH rentang pendek sebagai indikator eksternal. Saring jika perlu, bilas krus dan penyaring dengan 10 ml air. Kumpulkan filtrat dan air cucian dalam tabung pembanding warna 50 ml, encerkan dengan air hingga 40 ml, dan campur.

**Prosedur** Ke dalam tiap tabung yang masing-masing berisi *Larutan baku* dan *Larutan uji* tambahkan 2 ml *dapar asetat pH 3,5* kemudian tambahkan 1,2 ml *tioasetamida LP*, encerkan dengan air hingga 50 ml, campur, diamkan selama 2 menit. Amati permukaan dari atas pada dasar putih: Warna yang terjadi pada *Larutan uji* tidak lebih gelap dari warna yang terjadi pada *Larutan baku*.

#### Metode IV

**Larutan uji** Masukkan sejumlah zat (tidak lebih dari 2 g) ke dalam krus silika dan 4 ml larutan *magnesium sulfat P 25%* dalam *asam sulfat 2 N*. Aduk dengan batang pengaduk kaca kecil dan panaskan hati-hati. Jika campuran berbentuk cairan, uapkan perlahan-lahan di atas tangas air hingga kering. Pijarkan dengan cepat, suhu tidak lebih dari 800°, dan lanjutkan pemanasan hingga sisa berwarna putih atau keabu-abuan. Biarkan dingin, basahkan sisa dengan 0,2 ml *asam sulfat 2 N*, uapkan, pijarkan kembali dan biarkan dingin. Lama pemijaran tidak boleh lebih dari 2 jam. Larutkan residu dalam 5 ml *asam klorida 2 N*, dan tambahkan lagi 5 ml *asam klorida 2 N*. Tambahkan 0,1 ml *fenolftalein LP* dan amonium hidroksida 13 N tetes demi tetes hingga terjadi warna merah muda. Dinginkan, tambahkan *asam asetat glasial P* hingga larutan tidak berwarna, dan tambahkan lagi 0,5 ml *asam asetat glasial P*. Saring jika perlu dan encerkan larutan dengan air hingga 20 ml.

**Larutan baku** Buat seperti tertera pada larutan uji menggunakan sejumlah *Larutan timbal* yang ditentukan (10 bpj Pb) untuk mengganti zat yang diuji. Pada 10 ml larutan yang diperoleh tambahkan 2 ml *Larutan uji*.

**Larutan blangko** Campur 10 ml air dengan 2 ml *Larutan uji*.

**Prosedur** Ke dalam masing-masing 12 ml larutan tambahkan 2 ml *dapar asetat pH 3,5* dan campur. Tambahkan 1,2 ml *tioasetamida LP*, campur dengan cepat, diamkan 2 menit. Amati permukaan dari atas pada dasar putih: Uji tidak absah bila *Larutan baku* tidak menunjukkan warna cokelat dibanding *Larutan blangko*, warna cokelat yang terjadi pada *Larutan uji* tidak lebih intensif dari warna *Larutan baku*. Jika hasil yang diperoleh sulit untuk disimpulkan, saring larutan melalui penyaring membran (ukuran pori 3 µm); lihat gambar alat tanpa prefilter. Lakukan penyaringan secara lambat dan menyeluruh menggunakan tekanan sedang dan konstan. Bandingkan bercak pada penyaring di antara ketiga larutan.

#### Metode V

**Dapar asetat pH 3,5** Buat seperti tertera pada *Metode I*

**Larutan baku** Masukkan campuran 8 ml *asam sulfat P* dan 10 ml *asam nitrat P* ke dalam labu Kjeldahl 100 ml yang bersih dan kering, tambahkan sejumlah volume

*asam nitrat P* yang sama dengan jumlah yang ditambahkan pada *Larutan uji*. Panaskan larutan hingga terbentuk asap putih tebal, dinginkan, tambahkan dengan hati-hati 10 ml air; dan jika digunakan *hidrogen peroksida* pada pembuatan *Larutan uji*, tambahkan sejumlah volume yang sama *hidrogen peroksida P 30%* yang digunakan pada *Larutan uji*, dididihkan perlahan-lahan hingga terbentuk asap putih tebal. Dinginkan lagi, tambahkan hati-hati 5 ml air, campur dan dididihkan hati-hati hingga terbentuk asap putih tebal, hingga volume 2 ml sampai 3 ml. Dinginkan, encerkan hati-hati dengan beberapa ml air, tambahkan 2,0 ml *Larutan baku timbal (20 µg Pb)* dan campur. Pindahkan ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, bilas labu dengan air, tambahkan air bilasan ke dalam tabung hingga 25 ml dan campur.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, gunakan sejumlah zat uji dalam g, yang dihitung dengan rumus :

$$\frac{2,0}{1000L}$$

*L* adalah batas *Logam berat* dalam persen.

*Jika zat uji berbentuk padat* Masukkan sejumlah zat uji ke dalam labu Kjeldahl 100 ml yang bersih dan kering. [Catatan Labu 300 ml dapat digunakan jika reaksi membentuk busa berlebihan.] Klem labu dengan sudut 45°, dan tambahkan campuran 8 ml *asam sulfat P* dan 10 ml *asam nitrat P* secukupnya untuk membasahi zat. Hangatkan perlahan-lahan hingga terjadi reaksi, biarkan reaksi mereda. Tambahkan sejumlah sama campuran asam, panaskan pada setiap penambahan, sampai jumlah campuran asam yang ditambahkan 18 ml. Naikkan suhu dan dididihkan perlahan-lahan hingga larutan menjadi gelap. Dinginkan, tambahkan 2 ml *asam nitrat P* dan panaskan lagi hingga larutan menjadi gelap. Lanjutkan pemanasan, diikuti dengan penambahan *asam nitrat P* sampai tidak lagi gelap, kemudian panaskan kuat sampai terbentuk asap putih tebal. Dinginkan, tambahkan hati-hati 5 ml air, dididihkan perlahan-lahan sampai terbentuk asap putih, dan lanjutkan pemanasan sampai volume berkurang hingga beberapa ml. Dinginkan, tambahkan dengan hati-hati 5 ml air dan amati warna larutan. Jika berwarna kuning, tambahkan dengan hati-hati 1 ml *hidrogen peroksida 30%* dan uapkan lagi sampai terbentuk asap putih tebal dan volume menjadi 2 hingga 3 ml. Jika warna larutan masih kuning, ulangi penambahan 5 ml air dan peroksida seperti di atas. Dinginkan, encerkan hati-hati dengan beberapa ml air, pindahkan ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, dan bilas. Jaga kumpulan volume bilasan tidak lebih dari 25 ml.

*Jika zat berbentuk cair* Masukkan sejumlah zat uji ke dalam labu Kjeldahl 100 ml yang bersih dan kering. [Catatan Labu 300 ml dapat digunakan jika reaksi membentuk busa berlebihan.] Klem labu pada sudut 45° dan tambahkan dengan hati-hati beberapa ml campuran

8 ml asam sulfat P dan 10 ml asam nitrat P. Hangatkan perlahan-lahan hingga terjadi reaksi, biarkan reaksi mereda dan lanjutkan seperti tertera pada *Jika zat uji berbentuk padat* dimulai dengan "Tambahkan lagi sejumlah campuran asam yang sama".

**Larutan pembanding** Lakukan digesti menggunakan sejumlah sama sampel dengan prosedur yang sama seperti tertera pada *Larutan uji* sub bagian *Jika zat berbentuk padat* sampai langkah "Dinginkan, tambahkan dengan hati-hati dengan beberapa ml air". Tambahkan 2,0 ml *Larutan baku timbal* (20 µg Pb), campur. Pindahkan ke dalam tabung pembanding warna 50 ml, cuci labu dengan air, tambahkan air cucian ke dalam tabung sampai 25 ml dan campur.

**Prosedur** Perlakukan *Larutan uji*, *Larutan baku* dan *Larutan pembanding* sebagai berikut: Atur pH larutan antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan amonium hidroksida P (amonia LP dapat digunakan jika diinginkan pada saat mendekati jarak pH yang ditetapkan), encerkan dengan air hingga 40 ml, campur. Ke dalam tiap tabung tambahkan 2 ml *dapar asetat pH 3,5* kemudian 1,2 ml *tioasetamida LP*, encerkan dengan air hingga 50 ml, campur dan diamkan 2 menit. Amati permukaan dari atas pada dasar putih: Warna yang terjadi pada *Larutan uji* tidak lebih gelap dari warna yang terjadi pada *Larutan baku* dan warna yang terjadi pada *Larutan pembanding* sama atau lebih gelap dari warna yang terjadi pada *Larutan baku*.

#### Metode VI

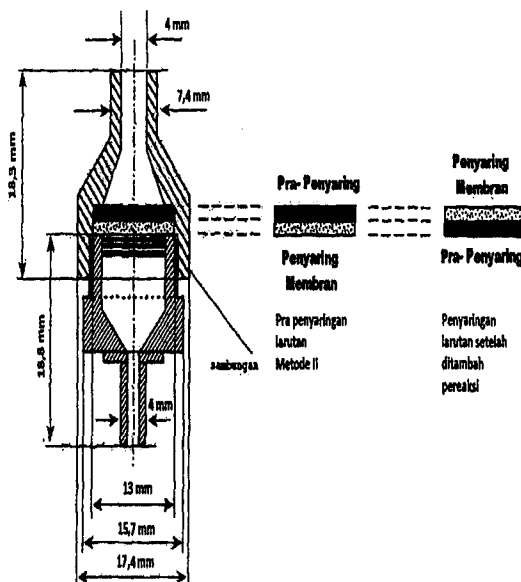
**Larutan uji** Campur sejumlah zat uji dengan 50 mg *magnesium oksida P* dalam krus silika. Pijarkan di atas nyala api sampai terbentuk masa homogen berwarna putih atau putih keabu-abuan. Jika setelah 30 menit campuran masih berwarna, biarkan dingin, aduk dengan batang pengaduk kaca kecil dan ulangi pemijaran. Panaskan pada suhu 800° selama lebih kurang 1 jam, larutkan residu dalam 5 ml *asam klorida 5 N*, tambahkan lagi 5 ml *asam klorida 5 N* dan lanjutkan prosedur seperti tertera pada *Metode IV*, mulai dengan "Tambahkan 0,1 ml ...".

**Larutan baku** Buat seperti tertera pada *Larutan uji* menggunakan *Larutan baku timbal* yang ditetapkan (10 bpj) untuk menggantikan zat yang diuji dan keringkan dalam oven pada suhu 100° - 105°. Pada 10 ml larutan yang diperoleh, tambahkan 2 ml *Larutan uji*.

**Larutan blangko** Campur 10 ml air dan 2 ml *Larutan uji*.

**Prosedur** Ke dalam masing-masing 12 ml larutan tambahkan 2 ml *dapar asetat pH 3,5* dan campur. Tambahkan 1,2 ml *tioasetamida LP*, campur dengan cepat, diamkan 2 menit. Amati permukaan dari atas pada dasar putih: Uji tidak absah bila *Larutan baku* tidak menunjukkan warna cokelat dibanding *Larutan blangko*,

warna cokelat yang terjadi pada *Larutan uji* tidak lebih intensif dari warna *Larutan baku*. Jika hasil yang diperoleh sulit untuk disimpulkan, saring larutan melalui penyaring membran (ukuran pori 3 µm); lihat gambar alat tanpa prefilter. Lakukan penyaringan secara lambat dan menyeluruh menggunakan tekanan sedang dan konstan. Bandingkan bercak pada penyaring di antara ketiga larutan.



Alat untuk Uji Batas Logam Berat

### UJI BATAS RAKSA <381>

#### Metode I

[Catatan Raksa(II) ditizonat peka terhadap cahaya. Lakukan pengujian dalam cahaya lemah.]

**Pereaksi Larutan persediaan ditizon** Larutkan 40 mg ditizon P dalam 1000 ml kloroform P.

**Titran ditizon** Encerkan 30,0 ml *Larutan persediaan ditizon* dengan kloroform P hingga 100,0 ml. Larutan ini mengandung lebih kurang 12 mg ditizon P per liter.

**Larutan persediaan raksa** Masukkan 135,4 mg raksa(II) klorida P ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam sulfat 1 N sampai tanda. Larutan ini mengandung setara dengan 100 mmHg per 100 ml.

**Larutan raksa untuk pembakuan titran ditizon** Masukkan 2,0 ml *Larutan persediaan raksa* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan asam sulfat 1 N sampai tanda. Tiap ml larutan ini mengandung setara dengan 20 µg Hg.

Larutan-larutan berikut digunakan untuk uji batas raksa yang tertera pada monografi: *Besi(II) Fumarat* dan *Besi(II) Sulfat*.

**Larutan hidrosilamina hidroklorida** Buat seperti tertera pada *Uji Batas Timbal <401>*.



**Larutan baku raksa** Buat larutan segar dengan mengencerkan secara kuantitatif 1,0 ml *Larutan persediaan raksa* dengan *asam sulfat 1 N* sampai 1000 ml. Tiap ml larutan ini setara dengan 1 µg Hg.

**Larutan pengekstraksi ditizon** Buat seperti tertera pada *Uji Batas Timbal <401>*.

**Larutan pengekstraksi ditizon encer** Buat larutan segar, encerkan 5 ml *Larutan pengekstraksi ditizon* dengan 25 ml *klorofrom P*.

**Pembakuan titran ditizon** Masukkan 1,0 ml *Larutan raksa untuk pembakuan titran ditizon* ke dalam corong pisah 250 ml, tambahkan 100 ml *asam sulfat 1 N*, 90 ml air, 1 ml *asam asetat glasial P* dan 10 ml larutan *hidroksilamina hidroklorida P* (1 dalam 5). Titrasi larutan dengan *Titran ditizon* menggunakan buret mikro 10 ml, kocok campuran 20 kali setiap penetesan dan biarkan lapisan kloroform memisah, kemudian buang lapisan kloroform. Lanjutkan sampai penambahan *Titran ditizon* terakhir berwarna hijau setelah dikocok. Hitung jumlah dalam µg kesetaraan Hg untuk tiap ml *Titran ditizon* dengan rumus:

$$\left(\frac{20}{V}\right)$$

*V* adalah volume, dalam ml *Titran ditizon* yang ditambahkan.

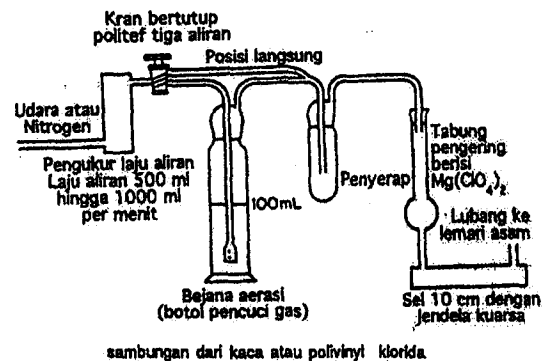
**Larutan uji** Timbang saksama lebih kurang 2 g, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml bersumbat kaca, tambahkan 20 ml campuran *asam nitrat P* dan *asam sulfat P* volume sama, hubungkan dengan pendingin yang sesuai, refluks campuran selama 1 jam, dinginkan, encerkan hati-hati dengan air dan didihkan sampai uap asam nitrit habis. Dinginkan larutan, encerkan hati-hati dengan air, pindahkan ke dalam labu tentukur 200-ml, encerkan dengan air sampai tanda, campur dan saring.

**Prosedur** Masukkan 50,0 ml *Larutan uji* ke dalam corong pisah 250 ml, ekstraksi beberapa kali dengan sedikit *klorofrom P*, sampai ekstrak kloroform terakhir tidak berwarna. Buang ekstrak kloroform dan pada larutan tambahkan 50 ml *asam sulfat 1 N*, 90 ml air, 1 ml *asam asetat glasial P* dan 10 ml larutan *hidroksilamina hidroklorida P* (1 dalam 5). Lakukan seperti pada *Pembakuan titran ditizon*, mulai dengan "Titrasi larutan dengan *Titran ditizon*". Hitung jumlah raksa.

### Metode II

**Instrumen deteksi raksa** Gunakan spektrofotometer serapan atom yang sesuai, dilengkapi dengan perekam respons cepat dan dapat mengukur radiasi yang diserap oleh uap raksa pada garis resonansi raksa pada 253,6 nm. [Catatan Cuci semua peralatan kaca yang digunakan dengan *asam nitrat P*, dan bilas seaksama dengan air sebelum digunakan.]

**Alat aerasi** (Lihat gambar) Terdiri dari pengukur laju aliran yang dapat mengukur laju aliran dari 500 ml hingga 1000 ml per menit, yang dihubungkan kran bertutup politer tiga aliran ke bejana aerasi (botol pencuci gas 250 ml), labu perangkap; tabung pengering berisi *magnesium perklorat P* dan sel 10 cm x 25 mm dengan jendela kuarsa, yang dihubungkan ke lemari asam.



Alat Aerasi Raksa

### Pereaksi

**Larutan kalium permanganat** Larutkan 5 g kalium permanganat *P* dalam 100 ml air.

**Larutan hidroksilamina hidroklorida** Larutkan 10 g hidroksilamina hidroklorida *P* dalam 100 ml air.

**Larutan timah(II) klorida** Larutkan 10 g timah(II) klorida,  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dalam 20 ml asam klorida *P* hangat, tambahkan 80 ml air. Buat segar setiap minggu.

**Larutan baku raksa** Buat dari *Larutan persediaan raksa* seperti pada *Metode I*. Tiap ml *Larutan baku raksa* mengandung setara dengan 1 µg Hg.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, timbang dalam g, zat uji yang dihitung dengan rumus:

$$\left(\frac{2,0}{L}\right)$$

*L* adalah batas raksa dalam bpi.

### Metode IIA

**Larutan baku** Pipet 2,0 ml *Larutan baku raksa* ke dalam gelas piala 100 ml, tambahkan 35 ml air, 3 ml *asam sulfat P*, dan 1 ml *Larutan kalium permanganat*. Tutup gelas piala dengan kaca arloji, didihkan beberapa detik, dinginkan.

**Larutan uji** Masukkan sejumlah zat uji ke dalam gelas piala 100 ml, dan tambahkan 35 ml air. Aduk dan hangatkan jika perlu untuk melarutkan. Tambahkan 2 tetes *fenolfalein LP*, dan perlahan-lahan netralkan seperlunya sambil terus diaduk, dengan *natrium*

*hidroksida 1 N* atau *asam sulfat 1 N*. Tambahkan 3 ml *asam sulfat P* dan 1 ml *Larutan kalium permanganat*. Tutup gelas piala dengan kaca arloji, dididihkan beberapa menit, dan dinginkan.

**Prosedur** Pasang alat aerasi seperti pada gambar, dengan bejana aerasi dan labu perangkap dalam keadaan kosong, dan kran pada posisi langsung ke labu perangkap. Hubungkan alat dengan sel penyerap, dan atur laju aliran udara atau *nitrogen P* sehingga dalam prosedur berikut diperoleh penyerapan dan reproduibilitas maksimum, tanpa busa berlebih dalam *Larutan uji*. Usahakan pembacaan garis dasar yang lurus pada 253,6 nm, sesuai buku petunjuk penggunaan alat. Perlakukan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dengan cara yang sama sebagai berikut: Hilangkan kelebihan permanganat dengan penambahan tetes demi tetes *Larutan hidrosilamina hidroksida*, sampai larutan tidak berwarna. Segera masukkan larutan ke dalam bejana aerasi, bilas dan encerkan dengan air hingga 100 ml. Tambahkan 2 ml *Larutan timah(II) klorida*, dan segera hubungkan kembali bejana aerasi dengan *Alat aerasi*, putar kran dari posisi langsung ke labu perangkap ke posisi aerasi, dan teruskan aerasi sampai puncak serapan telah terlampaui dan pena pencatat kembali ke garis dasar. Lepaskan bejana aerasi dari alat, dan cuci alat setelah digunakan. Setelah dikoreksi dengan blangko pereaksi, serapan *Larutan uji* tidak lebih dari *Larutan baku*.

#### Metode Iib

[Perhatian Beberapa zat pada waktu didigesti dengan hidrogen peroksida dapat menimbulkan ledakan hebat. Perhatikan keamanan selama bekerja.]

**Larutan baku** Pipet 2 ml *Larutan baku raksa* ke dalam Erlenmeyer 125 ml, tambahkan masing-masing 3 ml *asam nitrat P* dan *asam sulfat P*, campur, dan tambahkan sejumlah *hidrogen peroksida P* sejumlah yang sama seperti yang digunakan pada pembuatan *Larutan uji*. Hubungkan labu dengan kondensor air dingin yang sesuai, dan refluks di dalam lemari asam selama 1 jam. Hentikan sirkulasi air yang melewati kondensor, dan panaskan hingga terjadi uap putih di dalam labu. Dinginkan, dan secara hati-hati tambahkan 10 ml air melalui pendingin, sambil goyangkan labu. Panaskan kembali hingga terjadi uap putih, dinginkan dan tambahkan lagi 15 ml air. Lepaskan kondensor dan bilas dinding labu hingga diperoleh volume 35 ml. Tambahkan 1 ml *Larutan kalium permanganat*, dididihkan selama beberapa detik, dan dinginkan.

**Larutan uji** Masukkan sejumlah zat uji yang telah dihitung ke dalam labu Erlenmeyer 125 ml. Tambahkan masing-masing 5 ml *asam nitrat P* dan *asam sulfat P* dan beberapa manik kaca. Hubungkan labu dengan kondensor air dingin dan digesti dalam lemari asam, sebaiknya dengan lempeng pemanas pada suhu tidak lebih dari 120° sampai mulai pengarangan. (Jika diperlukan penambahan *asam sulfat P* untuk membasahi spesimen secara

sempurna, tambahkan hati-hati melalui kondensor, tetapi jumlahnya tidak boleh lebih dari 10 ml). Setelah zat uji terurai oleh asam, tambahkan hati-hati melalui pendingin, tetes demi tetes *hidrogen peroksida P*, biarkan reaksi reda dan panaskan lagi di antara penetasan (tambahkan beberapa tetes pertama dengan sangat hati-hati dengan pencampuran yang cukup, untuk mencegah reaksi yang cepat; hentikan pemanasan jika terjadi buih berlebihan). Jika reaksi telah reda, panaskan hati-hati, goyang labu sesekali untuk mencegah zat melekat pada dinding dasar labu yang kontak dengan pemanas. Pertahankan kondisi oksidasi selama digesti dengan penambahan sedikit hidrogen peroksida apabila campuran menjadi cokelat atau hitam. Lanjutkan digesti sampai zat organik terurai, dan kemudian refluks campuran selama 1 jam. Hentikan sirkulasi air pendingin, dan panaskan hingga terjadi asap putih belerang trioksida berlebih dan larutan menjadi tidak berwarna atau sedikit kekuningan. Dinginkan, dan tambahkan 10 ml air hati-hati melalui kondensor, sambil menggoyangkan labu. Panaskan kembali hingga terjadi uap putih. Dinginkan, tambahkan 15 ml air hati-hati. Lepaskan pendingin, bilas dinding labu sebelah dalam dengan beberapa ml air hingga diperoleh volume 35 ml. Tambahkan 1 ml *Larutan kalium permanganat*, dididihkan selama beberapa detik, dan dinginkan.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Metode Iia*.

#### UJI BATAS SELENIUM <391>

**Larutan persediaan** Larutkan 40,0 mg *selenium P* dalam 100 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 2) dalam labu tentukur 1000-ml, jika perlu hangatkan hati-hati di atas tangas uap hingga larut, tambahkan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan air sampai tanda. Tiap ml larutan mengandung setara dengan 1 µg selenium (Se).

**Larutan diaminonaftalena** Larutkan 10 mg 2,3-diaminonaftalena *P* dan 500 mg *hidrosilamin hidroklorida P* dalam *asam klorida 0,1 N* hingga 100 ml. Larutan dibuat segar.

**Larutan baku** Pipet 6 ml *Larutan persediaan* ke dalam gelas piala 150 ml, tambahkan 25 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 30) dan 25 ml air.

**Larutan uji** Faktor penting dalam pengujian adalah pembakaran sempurna zat uji. Untuk senyawa yang pembakarannya kurang sempurna dan menghasilkan jelaga, penambahan magnesium *oksida P* biasanya menghasilkan pembakaran lebih sempurna dan mengurangi pembentukan jelaga. Penambahan magnesium oksida yang diperlukan tertera pada masing-masing monografi. Gunakan labu pembakar 1000 ml dan 25 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 30) sebagai cairan penjerap, dan lakukan seperti tertera pada *Pembakaran*

dengan Labu Oksigen <501>, jika tidak dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan contoh pengujian 100 - 200 mg. Setelah pembakaran sempurna, basahi mulut labu dengan beberapa ml air, longgarkan sumbat, dan bilas sumbat, tempat contoh, dan dinding labu dengan lebih kurang 10 ml air. Masukkan larutan dengan bantuan lebih kurang 20 ml air ke dalam gelas piala 150 ml dan panaskan hati-hati sampai suhu didih. Didihkan selama 10 menit dan biarkan dingin pada suhu kamar.

**Prosedur** Perlakukan *Larutan baku*, *Larutan uji* dan blangko pereaksi yang mengandung 25 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 30) dan 25 ml air, secara bersamaan sebagai berikut: Tambahkan larutan *amonium hidroksida P* (1 dalam 2) hingga pH  $2,0 \pm 0,2$ . Encerkan dengan air hingga 60,0 ml dan pindahkan ke dalam corong pisah aktinik rendah dengan bantuan 10,0 ml air, tambahkan 10,0 ml air bilasan ke dalam corong. Tambahkan 200 mg *hidroksilamina hidroklorida P*, goyang hingga larut, tambahkan segera 5,0 ml *larutan diaminonafalena*, tutup labu, goyang. Diamkan larutan pada suhu kamar selama 100 menit. Tambahkan 5,0 ml *sikloheksana P*, kocok kuat selama 2 menit, biarkan lapisan memisah. Buang lapisan air, dan sentrifus ekstrak sikloheksana untuk menghilangkan air yang terdispersi. Tetapkan serapan ekstrak sikloheksana *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 380 nm, gunakan ekstrak sikloheksana dari blangko pereaksi sebagai blangko. Serapan *Larutan uji* tidak lebih besar dari *Larutan baku*, menggunakan 200 mg contoh pengujian atau jika digunakan 100 mg contoh pengujian, tidak lebih besar dari setengah kali serapan *Larutan baku*.

#### UJI BATAS TIMBAL <401>

Ketatnya batas jumlah timbal yang diperbolehkan dalam sediaan farmasi mengakibatkan penggunaan dua metode yang salah satunya adalah metode berikut ini yang bergantung pada ekstraksi timbal dengan larutan ditizon. Untuk penetapan kadar logam berat secara umum, dihitung sebagai timbal, dapat dilihat pada *Uji Batas Logam Berat <371>*.

Untuk uji berikut ini, gunakan pereaksi yang mempunyai kandungan timbal serendah mungkin dan simpan semua pereaksi dalam wadah kaca borosilikat. Bilas semua alat kaca dengan larutan *asam nitrat P* (1 dalam 2) hangat, kemudian bilas dengan air.

##### Pereaksi khusus

*Larutan amonia sianida* Larutkan 2 g kalium sianida *P* dalam 15 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

*Larutan amonium sitrat* Larutkan 40 g *asam sitrat P* dalam 90 ml air. Tambahkan 2 tetes atau 3 tetes *merah fenol LP* dan secara hati-hati tambahkan *amonium hidroksida P* hingga berwarna kemerahan. Hilangkan timbal yang masih ada dengan cara mengekstraksi larutan

beberapa kali, tiap kali dengan 20 ml *Larutan pengekstraksi ditizon*, hingga tinggal larutan ditizon yang berwarna jingga-hijau.

*Enceran larutan baku timbal* Encerkan sejumlah volume *Larutan baku timbal* yang diukur saksama seperti tertera pada *Uji Batas Logam Berat <371>* (mengandung 10 µg Pb per ml), dengan 9 bagian volume larutan *asam nitrat P* (1 dalam 100) hingga kadar timbal 1 µg per ml.

*Larutan pengekstraksi ditizon* Larutkan 30 mg *ditizon P* dalam 1000 ml *kloroform P* dan tambahkan 5 ml *etanol P*. Simpan larutan dalam lemari pendingin.

Sebelum digunakan, kocok sejumlah volume *Larutan pengekstraksi ditizon* dengan lebih kurang setengah volume larutan *asam nitrat P* (1 dalam 100), buang bagian asam nitrat.

*Larutan hidroksilamina hidroklorida* Larutkan 20 g *hidroksilamina hidroklorida P* dalam air secukupnya hingga lebih kurang 65 ml, pindahkan ke dalam corong pisah, tambahkan 5 tetes *biru timol LP* kemudian tambahkan *amonium hidroksida P* hingga terjadi warna kuning. Tambahkan 10 ml larutan *natrium dietilditiokarbamat P* (1 dalam 25), campur dan diamkan selama 5 menit. Ekstraksi larutan beberapa kali, tiap kali dengan 10 - 15 ml *kloroform P* hingga 5 ml ekstrak kloroform tidak menghasilkan warna kuning apabila dikocok dengan *tembaga(II) sulfat LP*. Tambahkan *asam klorida 3 N* sampai larutan berwarna merah muda (jika perlu, tambahkan lagi 1 tetes atau 2 tetes *biru timol LP*) dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

*Larutan kalium sianida* Larutkan 50 g kalium sianida *P* dalam air secukupnya hingga 100 ml. Hilangkan timbal dengan cara mengekstraksi larutan beberapa kali, tiap kali menggunakan *Larutan pengekstraksi ditizon* seperti tertera pada *Larutan amonium sitrat* di atas, kemudian ekstraksi sisa ditizon dengan *kloroform P*. Encerkan *Larutan sianida* dengan air secukupnya hingga kadar 10 g kalium sianida per 100 ml.

*Larutan baku ditizon* Larutkan 10 mg *ditizon P* dalam 1000 ml *kloroform P*. Simpan larutan dalam botol bebas timbal bersumbat kaca, lindungi terhadap cahaya menggunakan pelindung yang sesuai, simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan uji** [Catatan Apabila dalam pembuatan larutan uji berikut ini, zat uji sangat cepat bereaksi dan mulai mengarang dengan 5 ml asam sulfat *P* sebelum dipanaskan, gunakan 10 ml larutan asam sulfat *P* (1 dalam 2) dingin dan tambahkan beberapa tetes *hidrogen peroksida P* sebelum dipanaskan.] Apabila dalam monografi tidak dicantumkan pembuatan larutan uji secara khusus, buat *Larutan uji* sebagai berikut. [Perhatian Lakukan prosedur ini dengan hati-hati, sebab beberapa zat mudah meledak apabila bereaksi dengan *hidrogen peroksida*.] Masukkan 1,0 g zat uji ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 5 ml *asam sulfat P* dan beberapa manik kaca, dan ekstraksi di atas lempeng pemanas dalam lemari asam hingga mulai mengarang. Pemanasan dapat dilakukan dengan cara lain yang sesuai (jika perlu tambahkan *asam sulfat P* lagi, agar basah sempurna, tetapi penambahan jangan lebih dari 10 ml).

Tambahkan *hidrogen peroksida P 30%* tetes demi tetes dengan hati-hati, biarkan reaksi mereda dan panaskan lagi diantara penetesan. Tambahkan beberapa tetes pertama secara sangat pelan, campur hati-hati supaya reaksi tidak terlalu cepat, dan hentikan reaksi jika terbentuk busa berlebih. Goyang larutan dalam labu untuk mencegah zat yang tidak bereaksi menempel pada dinding labu [*Catatan tambahkan peroksida jika campuran menjadi coklat atau menjadi gelap.*] Lanjutkan ekstraksi hingga zat terurai sempurna, timbul asap belerang trioksida dan larutan menjadi tidak berwarna. Dinginkan, tambahkan hati-hati 10 ml air, panaskan hingga belerang trioksida timbul lagi, dan dinginkan. Ulangi prosedur ini menggunakan 10 ml air lagi untuk menghilangkan sisa hidrogen peroksida, encerkan hati-hati dengan 10 ml air dan dinginkan.

**Prosedur** Pindahkan *Larutan uji*, bilas dengan 10 ml air, atau sejumlah volume larutan uji khusus seperti tertera pada monografi, ke dalam corong pisah, dan apabila tidak dinyatakan lain dalam monografi, tambahkan 6 ml *Larutan amonium sitrat* dan 2 ml *Larutan hidroksilamina hidroklorida*. (Untuk penetapan timbal dalam garam besi gunakan 10 ml *Larutan amonium sitrat*). Tambahkan 2 tetes *merah fenol LP* dan basakan dengan *amonium hidrokksida P*, hingga berwarna merah. Dinginkan larutan jika perlu, tambahkan 2 ml *Larutan kalium sianida*. Ekstraksi segera larutan ini beberapa kali, tiap kali dengan 5 ml *Larutan pengestraksi ditizon*, alirkan tiap ekstrak ke dalam corong pisah lain hingga larutan ditizon tetap berwarna hijau. Kocok kumpulan larutan ditizon selama 30 detik dengan 20 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 100) dan buang lapisan kloroform. Ke dalam larutan asam, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku ditizon* dan 4 ml *Larutan amonia-sianida* dan kocok selama 30 detik: warna lembayung lapisan kloroform tidak lebih tua dari pada larutan perbandingan yang dibuat dari sejumlah volume *Enceran larutan baku timbal* yang setara dengan batas timbal zat uji, menggunakan pereaksi yang sama dan diperlakukan sama seperti zat uji.

#### UJI ZAT MUDAH TERARANGKAN <411>

Pada uji zat mudah terarangkan, kecuali dinyatakan lain, tambahkan sejumlah tertentu zat yang telah di serbuk halus jika berbentuk padat, sedikit demi sedikit ke dalam wadah banding, yang terbuat dari kaca tak berwarna, tahan asam sulfat dan berisi sejumlah volume tertentu *asam sulfat LP*.

Aduk campuran dengan batang pengaduk kaca sampai larut, diamkan selama 15 menit. Kecuali dinyatakan lain, bandingkan warna larutan dengan larutan padanan, yang terdapat dalam wadah banding terbuat dari kaca tak berwarna dan mempunyai ukuran sama bagian dalam dan penampang melintang. Amati kedua cairan dari atas dengan latar belakang porselen atau kaca putih.

Jika pemanasan diperlukan untuk mempercepat pelarutan zat dalam *asam sulfat LP*, campur zat dengan

*asam sulfat LP* dalam tabung reaksi, panaskan seperti yang ditentukan, pindahkan ke dalam wadah banding untuk membandingkan dengan *Larutan padanan* yang telah ditentukan seperti tertera pada *Warna dan Akromisitas <1291>*.

Perlu diperhatikan kadar asam sulfat yang digunakan. Pereaksi yang berkadar 95,0 %±0,5 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ditetapkan sebagai Larutan uji.

#### KADAR ZINK OKSIDA DALAM MASSA PEREKAT <421>

Panaskan 1 g contoh yang telah dipotong-potong dengan 75 ml *kloroform P*, 6 ml *asam asetat 6 N* dan 40 ml air dalam labu Erlenmeyer hingga lapisan kloroform mendidih, lanjutkan pemanasan selama 4 menit sambil sering digoyang, biarkan agak dingin, tutup labu, kocok kuat-kuat selama 2 menit, bilas tutup dengan air dan kumpulkan bilasan dalam labu. Tambahkan 10 ml larutan *dapar amonia pH 10,9* dan titrasi selagi hangat dengan *dinatrium edetat 0,1 M LV* sambil terus digoyang, menggunakan 0,2 ml campuran indikator larutan *hitam eriokrom P 0,5%* dan larutan *hidroksilamin hidroklorida P 4,5%* dalam *metanol P*. Tiap ml *dinatrium edetat 0,1 M* setara dengan 8,137 mg ZnO. Enaptuangkan cairan titrasi melalui penyaring berukuran 106 µm, kembalikan serat yang terkumpul pada kain ke dalam labu, cuci beberapa kali dengan sedikit *kloroform P* dan keringkan pada suhu 105°. Biarkan bahan yang sudah kering pada suhu dan kelembaban seperti tertera pada *Penyiapan sediaan dalam Identifikasi Serat <841>* dan timbang. Bobot massa perekat adalah selisih dalam bobot. Hitung persentase kandungan zink oksida dalam massa perekat.

#### KANDUNGAN ANTISEPTIK DALAM PEMBALUT <431>

**Aminakrin hidroklorida** Ekstraksi 25 gr potongan-potongan kecil pembalut yang telah diimpregnasi dengan *eter P* menggunakan alat Soxhlet hingga lemak terekstraksi sempurna. Kocok ekstrak eter dengan 20 ml air, biarkan memisah dan simpan lapisan air. Keringkan bahan yang terekstraksi dalam aliran udara hangat dan ekstraksi kembali dengan *metanol P* yang mengandung 1 ml *asam klorida 2 N* sampai bahan antiseptik terekstraksi sempurna, uapkan ekstrak di atas tangas air sampai lebih kurang 10 ml, tambahkan lapisan air yang diperoleh dari ekstraksi dengan eter, kemudian tambahkan 100 ml air, didihkan untuk mengurangi volume hingga lebih kurang 60 ml, dinginkan dan atur pH hingga 5,0 dengan larutan *natrium asetat P 10%*. Sambil diaduk tambahkan 5 ml *kalium heksasianoferat(III) 0,04 M*, biarkan selama 30 menit, saring dan cuci residu dengan 50 ml air. Pada kumpulan filtrat dan air cucian, tambahkan berturut-turut 1 ml *asam klorida P*, 1 g *natrium klorida P*, 5 ml larutan *kalium iodida P 2,0%* dan

2 ml larutan zink sulfat P 15,0%, sambil diaduk setelah setiap penambahan. Biarkan selama 3 menit dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,04 M LV menggunakan indikator natrium amilum glikolat LP. Lakukan penetapan blangko.

1 ml natrium tiosulfat 0,04 M  
setara dengan 29,85 mg  $C_{13}H_{10}N_2 \cdot HCl \cdot H_2O$

**Klorheksidin hidroklorida Larutan uji** Timbang seksama 30 g pembalut yang telah diimpregnasi, tambahkan 140 ml air dan 60 ml asam klorida 1 N, kocok selama 30 menit, enaptuangkan. Kocok residu selama 15 menit dua kali, tiap kali dengan 100 ml campuran 7 volume air dan tiga kali volume asam klorida 1 N, enaptuangkan setiap ekstrak. Encerkan kumpulan ekstrak dengan air hingga 1000 ml. Pada 40,0 ml larutan ini tambahkan 45 ml air dan 5 ml larutan setrimida P 20%, basakan dengan natrium hidroksida 5 N, terhadap kertas lakmus P, tambahkan 2 ml brom P 1,0% dalam natrium hidroksida 10 N dan kocok. Tambahkan 1 ml isopropanol P untuk menghilangkan buih, encerkan dengan air hingga 100 ml dan biarkan pada suhu 18° - 22° selama 25 menit. Ukur serapan dari larutan yang dihasilkan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 480 nm.

**Kurva kalibrasi** Buat kurva kalibrasi serapan menggunakan larutan yang mengandung 0,001% sampai 0,005% Klorheksidin Hidroklorida BPFI dalam campuran 5 volume asam klorida 1 N dan 95 volume air. Lakukan seperti tertera pada Larutan uji, mulai dari "Pada 40,0 ml larutan ini tambahkan". Hitung kandungan  $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$  menggunakan kurva kalibrasi.

**Klorheksidin glukonat** Lakukan penetapan seperti tertera pada Klorheksidin Hidroklorida, menggunakan larutan Klorheksidin Glukonat BPFI untuk membuat kurva kalibrasi. Hitung kandungan  $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$ .

**Domifen bromide** Gunakan Metode I atau Metode II. Metode I umumnya segera digunakan, tetapi pada pembalut tertentu, zat warna yang digunakan pada pembuatan pembalut dapat mengganggu warna biru normal lapisan kloroform pada waktu titrasi. Dalam hal ini gunakan Metode II.

**Metode I** Keringkan 5 g (w g) potongan-potongan kecil pembalut yang telah diimpregnasi pada suhu 105° sampai bobot tetap. Celupkan bahan yang telah kering dalam 100 ml asam klorida P-metanol 1 N yang dibuat dengan mengalirkan gas hidrogen klorida P ke dalam metanol P, kocok selama 30 menit, enaptuangkan larutan; masukkan 50 ml ke dalam labu bulat alas datar, uapkan hingga 5 ml sampai 10 ml diatas tangas air dan biarkan dingin. Tambahkan 40 ml air dan 0,2 ml biru bromofenol LP. Titrasi dengan natrium hidroksida 2 N LV sampai berwarna biru atau hijau dan tambahkan berlebih 5 ml. Tambahkan 3,0 g natrium asetat anhidrat P dan 10 ml kloroform P, kocok dan titrasi dengan larutan natrium dodesil sulfat P 0,014% hingga warna lapisan kloroform berubah menjadi tidak berwarna atau kuning ( $V_1$  ml). Ulangi pengujian menggunakan 5 g kain pembalut dasar

tanpa diimpregnasi dan tidak diberi zat perwarna yang telah diberi larutan 5,0 ml domifen bromida P 0,140% dalam metanol P dan telah didispersikan dan dikeringkan pada suhu 105° ( $V_2$  ml). Hitung persentase  $C_{22}H_{40}BrNO$ , dengan rumus:

$$\frac{0,7V_1}{wV_2}$$

**Metode II** Buat kolom kromatografi sebagai berikut: Suspensikan sejumlah resin penukar anion basa kuat (Amberlit IRA-400, Deasidit FF-IP atau Zerolit FF) dalam asam klorida 2 N dan biarkan selama 10 menit. Masukkan suspensi secukupnya ke dalam tabung kromatografi yang sesuai, dilengkapi gumpalan wol kaca pada ujungnya yang menyempit, hingga tinggi kolom lebih kurang 15 cm, cuci kolom dengan air hingga pH eluat 6 - 7, kemudian cuci beberapa kali dengan metanol P.

Keringkan 5 g potongan-potongan kecil bahan pembalut yang akan diuji pada suhu 105° hingga bobot tetap, celupkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml metanol P dan kocok selama 30 menit. Enaptuangkan cairan bagian atas yang jernih. Masukkan 50 ml ke dalam kolom melalui corong pisah dengan kecepatan lebih kurang 3 ml per menit, kumpulkan eluat dalam labu alas datar, cuci kolom dengan 40 ml metanol P, uapkan kumpulan eluat dan cucian di atas tangas air hingga volume 5 ml sampai 10 ml, biarkan dingin dan lakukan seperti tertera pada Metode I, mulai dari "Tambahkan 40 ml air dan".

## KANDUNGAN ZAT ANTIMIKROBA <441>

Komponen penting dalam injeksi yang dikemas dalam wadah dosis ganda adalah zat atau zat-zat yang dapat mengurangi bahaya cemaran mikroba. Farmakope mensyaratkan pencantuman nama dan jumlah zat antimikroba pada etiket. Metode di bawah ini adalah untuk zat-zat yang paling umum digunakan untuk menunjukkan bahwa zat yang tertera memang ada tetapi tidak lebih dari 20% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Kadar pengawet antimikroba yang ditambahkan ke dalam sediaan parenteral dosis ganda atau dosis tunggal, sediaan telinga, hidung dan mata dapat berkurang selama masa berlakunya suatu produk. Karena diketahui bahwa kadar pengawet dalam sediaan dapat berkurang selama masa berlakunya produk, produsen hendaknya menentukan kadar pengawet terendah yang masih efektif dan produk tersebut harus diformulasikan sedemikian untuk meyakinkan bahwa kadar terendah ini dilampaui selama masa berlakunya produk. Pada saat pembuatan, produk harus mengandung sejumlah pengawet antimikroba seperti tertera pada etiket (dalam rentang  $\pm 20\%$ ). Pencantuman jumlah pengawet yang tertera pada etiket bukan berarti bahwa jumlah tersebut tetap selama masa berlaku produk, tetapi merupakan pernyataan tentang jumlah yang ditambahkan, dalam batas proses, dan tidak melampaui 20%. Contoh pernyataan pada etiket

“..... (unit) ditambahkan sebagai pengawet”. [Catatan ..... (unit) berupa angka yang diikuti dengan satuan ukuran, misalnya 0,015 mg per ml atau 0,1%.]

Zat-zat yang paling lazim digunakan adalah 2 senyawa raksa: fenil raksa(II) nitrat dan timerosal; dan 4 homolog ester asam p-hidroksibenzoat, fenol, benzil alkohol, dan klorobutanol. Cara penetapan fenil raksa(II) nitrat dan timerosal dengan metode polarografi, sedangkan yang lainnya secara kromatografi gas.

### METODE UMUM KROMATOGRAFI GAS

Prosedur umum berikut ini dapat digunakan untuk penetapan kuantitatif benzil alkohol, klorobutanol, fenol dan ester metil, etil, propil dan butil asam p-hidrobenzoat, yang disebut terakhir dianggap sebagai satu kelompok, dan masing-masing, jika ada, dapat ditetapkan secara terpisah. Buat *Larutan baku internal* dan *Larutan baku* untuk tiap senyawa seperti berikut ini. Kecuali dinyatakan lain, buat *Larutan uji* dengan cara mencampur sejumlah *Larutan baku internal* dan sejumlah zat uji yang diukur saksama, hingga kadar zat antimikroba dan komposisi pelarutnya mendekati kadar dan komposisi *Larutan baku*. Parameter operasional kromatograf gas disarankan seperti tertera pada tabel dibawah ini; sebagai gas pembawa *helium P* atau *nitrogen P*; tipe detektor ionisasi nyala.

Tabel Parameter Operasional Kromatograf Gas

Zat	Ukuran kolom		Isi kolom/ fase penyangga	laju aliran, ml per menit	suhu kolom
	panjang	Diameter dalam			
Benzil Alkohol	1,8 m	3 mm	5% G16/SIA	50	140°
Klorobutanol	1,8 m	2 mm	5% G16/SIA	20	110°
Fenol	1,2 m	3 mm	5% G16/SIA	50	145°
Paraben	1,8 m	2 mm	5% G2/SIA	20	150°

#### Benzil Alkohol

**Larutan baku internal** Larutkan lebih kurang 380 mg *fenol P* dalam 10 ml *metanol P* dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan air sampai tanda.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 180 mg *benzil alkohol P*, larutkan dalam 20,0 ml *metanol P* dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan *Larutan baku internal* sampai tanda.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih jurang 5 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, gunakan parameter operasional kromatograf gas yang tertera pada *Tabel*. Ukur luas puncak benzil alkohol dan fenol *Larutan baku*, tandai masing-masing dengan  $P_1$  dan  $P_2$ , dan luas puncak  $p_1$  dan  $p_2$  dari *Larutan uji*. Hitung jumlah dalam mg  $C_7H_8O$ , per ml zat uji yang digunakan dengan rumus :

$$100 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{p_1}{p_2} \right) \left( \frac{P_2}{P_1} \right)$$

$C$  adalah kadar benzil alkohol dalam mg per ml *Larutan baku*;  $V$  adalah volume zat uji dalam ml tiap 100 ml *Larutan uji*.

#### Klorobutanol

**Larutan baku internal** Larutkan lebih kurang 140 mg *benzaldehida P* dalam 10 ml *metanol P* dalam labu tentukur 100-ml, goyang sampai larut, dan encerkan dengan air sampai tanda.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 125 mg *klorobutanol P*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Tambahkan 2 ml *metanol P*, goyang sampai larut. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini dan 5,0 ml *Larutan baku internal*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, campur hingga kadar klorobutanol lebih kurang 2,5 mg per ml.

**Larutan uji** Ukur saksama sejumlah volume zat uji, jika perlu encerkan dengan *metanol P* hingga mengandung klorobutanol tidak lebih dari 5,0 mg per ml. Campur 3,0 ml larutan ini dengan 3,0 ml *Larutan baku internal*.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara kromatografi gas seperti tertera pada *Kromatografi <931>* [Catatan lihat *Tabel Parameter Operasional Kromatograf Gas*.] Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada suhu 180° dan 220°. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi,  $R$ , antara puncak benzaldehida dan klorobutanol tidak kurang dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif benzaldehida dan klorobutanol masing-masing lebih kurang 0,8 dan 1,0. Hitung jumlah dalam mg  $C_4H_7Cl_3O$ , per ml zat uji yang digunakan dengan rumus :

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{R_u}{R_s} \right)$$

$C$  adalah klorobutanol dihitung terhadap zat anhidrat dalam mg per ml *Larutan baku*;  $L$  adalah jumlah klorobutanol yang tertera pada etiket dalam mg per ml zat uji;  $D$  adalah kadar klorobutanol dalam mg per ml *Larutan uji* dihitung terhadap volume zat uji yang telah diencerkan;  $R_u$  dan  $R_s$  berturut-turut adalah perbandingan puncak klorobutanol dan benzaldehida dalam *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

### Fenol

**Larutan baku internal** Pipet 1 ml *benzil alkohol P*, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml, tambahkan *metanol P* sampai tanda.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 75 mg *fenol P*, larutkan dalam 7,5 ml *metanol P* dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 20,0 ml *Larutan baku internal* dan tambahkan air sampai tanda.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 3 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, gunakan parameter operasional kromatograf gas seperti tertera pada *Tabel*. Ukur luas puncak fenol dan benzil alkohol dari *Larutan baku*, tandai masing-masing dengan  $P_1$  dan  $P_2$ , dan puncak  $p_1$  dan  $p_2$  dari *Larutan uji*. Hitung jumlah dalam mg  $C_6H_6O$ , dalam per ml zat uji yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{p_1}{p_2} \right) \left( \frac{P_2}{P_1} \right)$$

$C$  adalah kadar fenol dalam mg per ml *Larutan baku*;  $V$  adalah volume zat uji dalam ml per 100 ml *Larutan uji*.

### Metilparaben dan Propilparaben

**Larutan baku internal** Timbang lebih kurang 200 mg *benzofenon P*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan *eter P* sampai tanda.

**Larutan baku** Timbang saksama masing-masing 100 mg *metilparaben P* dan 10 mg *propilparaben P*, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan *Larutan baku internal* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 25 ml dan lanjutkan seperti tertera pada *Larutan uji*, mulai dari "Tambahkan 3 ml *piridina P*".

**Larutan uji** Pipet 10 ml zat uji dan 10 ml *Larutan baku internal*, masukkan ke dalam corong pisah kecil. Kocok kuat-kuat, biarkan lapisan memisah, pindahkan lapisan air ke dalam corong pisah kedua, dan pindahkan lapisan eter ke dalam labu kecil melalui corong yang berisi *natrium sulfat anhidrat P*. Ekstraksi lapisan air dua kali, tiap kali dengan 10 ml *eter P*, saring ekstrak melalui *natrium sulfat anhidrat P*. Uapkan kumpulan ekstrak dengan aliran udara kering hingga volume lebih kurang 10 ml, dan masukkan residu ke dalam labu Erlenmeyer 25 ml. Tambahkan 3 ml *piridina P*, uapkan eter hingga sempurna dan didihkan di atas lempeng panas hingga volume lebih kurang 1 ml. Dinginkan, dan tambahkan 1,0 ml zat sililasi yang sesuai, seperti *heksametildisilazana P* yang sebelumnya telah ditambahkan *trimetilklorosilana P*, *bis(trimetilsilil)asetamida P*, atau *bis(trimetilsilil)trifluoroasetamida P*. Campur dan biarkan tidak kurang dari 15 menit.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 2 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* masing-masing yang telah disilanisasi, gunakan parameter operasional kromatograf gas seperti tertera pada *Tabel*. Ukur luas puncak metil paraben, propil paraben dan benzofenon *Larutan baku*, tandai masing-masing dengan  $P_1$ ,  $P_2$  dan  $P_3$ , dan luas puncak  $p_1$ ,  $p_2$  dan  $p_3$  dari *Larutan uji*. Hitung jumlah dalam µg  $C_8H_8O_3$ , per ml zat uji dengan rumus:

$$100 \left( \frac{C_M}{V} \right) \left( \frac{p_1}{p_3} \right) \left( \frac{P_3}{P_1} \right)$$

$C_M$  adalah kadar metilparaben dalam µg per ml *Larutan baku*;  $V$  adalah volume zat uji dalam ml. Dengan cara yang sama, hitung jumlah dalam µg propilparaben,  $C_{10}H_{12}O_3$  per ml zat uji dengan rumus:

$$10 \left( \frac{C_p}{V} \right) \left( \frac{p_2}{p_3} \right) \left( \frac{P_3}{P_2} \right)$$

$C_p$  adalah kadar propilparaben dalam µg per ml *Larutan baku*. Etilparaben dan Butilparaben dapat ditetapkan dengan cara yang sama.

### METODE POLAROGRAFI

#### Fenil Raksa(II) Nitrat

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 100 mg *fenil raksa(II) nitrat P*, larutkan dalam larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 250) dalam labu tentukur 1000-ml, jika perlu dihangatkan, tambahkan larutan *natrium hidroksida P* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml dan lanjutkan seperti tertera pada *Larutan uji*, mulai dari "tambahkan 2 ml larutan *kalium nitrat P* (1 dalam 100)".

**Larutan uji** Pipet 10 ml zat uji, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 2 ml larutan *kalium nitrat P* (1 dalam 100) dan 10 ml *Larutan dapar borat basa* dan atur pH hingga 9,2 jika perlu dengan penambahan asam nitrat 2 N. Tambahkan 1,5 ml larutan segar *gelatin P* (1 dalam 1000), kemudian tambahkan *Larutan dapar borat basa* pH 9,2 sampai tanda.

**Prosedur** Masukkan sejumlah *Larutan uji* ke dalam sel polarograf, hilangkan udara dengan mengalirkan gas nitrogen ke dalam larutan selama 15 menit. Masukkan elektrode tetes raksa pada polarograf yang sesuai (Lakukan polarografi seperti tertera pada *Polarografi* <1161> dan rekam polarogram dari -0,6 volt hingga -1,5 volt terhadap elektrode kalomel jenuh. Tetapkan arus difusi ( $i_{d_u}$ ) dari *Larutan uji*, sebagai selisih antara arus sisa dan arus batas. Dengan cara yang sama dan bersamaan, lakukan penetapan arus difusi ( $i_{d_s}$ ) dari *Larutan baku*. Hitung jumlah dalam µg,  $C_6H_5HgNO_3$ , per ml zat uji dengan rumus:

$$2,5C \left[ \frac{(i_d)_u}{(i_d)_s} \right]$$

C adalah kadar fenil raksa(II) nitrat dalam  $\mu\text{g}$  per ml Larutan baku.

#### Timerosal

**Larutan baku** Buat larutan segar dengan menimbang saksama lebih kurang 25 mg *timerosal P*, masukkan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan air sampai tanda. Lindungi dari pengaruh cahaya. Pipet 15 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 1,5 ml larutan *gelatin P* (1 dalam 1000), kemudian tambahkan larutan *kalium nitrat P* (1 dalam 100) sampai tanda.

**Larutan uji** Pipet 15 ml zat uji ke dalam labu dalam labu tentukur 25-ml, tambahkan 1,5 ml larutan *gelatin P* (1 dalam 1000) tambahkan larutan *kalium nitrat P* (1 dalam 100) sampai tanda.

**Prosedur** Masukkan sejumlah *Larutan uji* ke dalam sel polarograf, hilangkan udara dengan mengalirkan gas nitrogen ke dalam larutan selama 15 menit. Masukkan elektrode tetes raksa pada polarograf yang sesuai (Lakukan polarografi seperti tertera pada *Polarografi* <1161>) dan rekam polarogram dari -0,2 volt sampai -1,4 volt terhadap elektrode kalomel jenuh. Tetapkan arus difusi  $(i_d)_u$  dari *Larutan uji* sebagai selisih antara arus sisa dan arus batas. Dengan cara yang sama dan secara bersamaan, lakukan penetapan arus difusi  $(i_d)_s$  dari *Larutan baku*. Hitung jumlah dalam  $\mu\text{g}$   $\text{C}_6\text{H}_9\text{HgNaO}_2\text{S}$ , per ml zat uji dengan rumus:

$$1,667C \left[ \frac{(i_d)_u}{(i_d)_s} \right]$$

C adalah kadar timerosal dalam  $\mu\text{g}$  per ml *Larutan baku*.

#### KAPASITAS PENETRALAN ASAM <451>

[Catatan Seluruh pengujian dilakukan pada suhu  $37 \pm 3^\circ$ ]

**Standardisasi pH meter** Lakukan kalibrasi pH meter menggunakan *Larutan dapar baku kalium biftalat 0,05 M* dan *kalium tetraoksalat 0,05 M* seperti tertera pada *Penetapan pH* <1071>.

**Pengaduk magnetik** Masukkan 100 ml air ke dalam gelas piala 250 ml yang berisi batang pengaduk magnetik 40 mm x 10 mm yang dilapisi perfluorokarbon padat dan mempunyai cincin putaran pada pusatnya. Atur daya pengaduk magnetik hingga menghasilkan kecepatan pengadukan rata-rata  $300 \pm 30$  putaran per menit, bila

batang pengaduk terpusat dalam gelas piala, seperti yang ditetapkan oleh takometer optik yang sesuai.

#### Larutan uji

*Serbuk* Timbang saksama sejumlah zat uji seperti yang tertera dalam masing-masing monografi, masukan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 70 ml air dan campur menggunakan *Pengaduk magnetik* selama 1 menit.

*Padatan efervesen* Timbang saksama sejumlah zat uji setara dengan dosis terkecil dari yang tertera pada etiket, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 10 ml air dan goyang perlahan-lahan biarkan reaksi mereda. Tambahkan lagi 10 ml air dan goyang perlahan-lahan. Cuci dinding bagian dalam gelas piala dengan 50 ml air dan campur menggunakan *Pengaduk magnetik* selama 1 menit.

*Suspensi dan Cairan lain* Kocok wadah sampai isinya homogen dan tetapkan bobot jenisnya. Timbang saksama sejumlah campuran tersebut yang tertera pada etiket masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan air hingga jumlah volume lebih kurang 70 ml dan campur menggunakan *Pengaduk magnetik* selama 1 menit.

*Tablet* Timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet, hitung bobot rata-rata. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan dosis terkecil dari yang tertera pada etiket, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml. Jika perlu pembahasan, tambahkan tidak lebih 5 ml etanol P (yang telah dinetralkan sampai pH 3,5), dan campur sampai semuanya basah. Tambahkan 70 ml air dan campur menggunakan *Pengaduk magnetik* selama 1 menit.

*Tablet kunyah* Lakukan penyiapan seperti tertera pada *Tablet*.

*Tablet wajib kunyah* Masukkan 1 tablet ke dalam gelas piala 250 ml tambahkan 50 ml air dan campur menggunakan *Pengaduk magnetik* selama 1 menit.

*Kapsul* Timbang saksama tidak kurang dari 20 kapsul, keluarkan semua isi kapsul, jika perlu bersihkan dengan kapas. Timbang saksama cangkang kapsul dan hitung bobot rata-rata isi kapsul. Campur homogen semua isi kapsul, dan lakukan penetapan seperti tertera pada *Tablet*, dimulai dari "Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan dosis terkecil dari yang tertera pada *Tablet*, dimulai dari "Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan dosis terkecil dari yang tertera pada etiket, masukkan"

**Prosedur untuk Serbuk, Padatan Efervesen, Suspensi dan Cairan lain, Tablet, Tablet kunyah dan Kapsul** Pipet 30 ml *asam klorida 1,0 N LV* ke dalam *Larutan uji* sambil diaduk terus menggunakan *Pengaduk magnetik*. [Catatan Bila kapasitas penetralan asam zat uji lebih besar dari 25 mEq, gunakan 60,0 ml *asam klorida 1,0 N LV*.] Setelah penambahan asam, aduk selama 15 menit tepat, segera titrasi. Titrasi kelebihan asam klorida dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV* dalam waktu tidak lebih dari 5 menit sampai dicapai pH 3,5 yang stabil (selama 10 detik sampai 15 detik). Hitung jumlah mEq asam yang digunakan dengan rumus:



$$\text{Total mEq} = (30 \times N_{\text{HCl}}) - (V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}})$$

$N_{\text{HCl}}$  dan  $N_{\text{NaOH}}$  berturut-turut adalah normalitas dari asam klorida LV dan natrium hidroksida LV;  $V_{\text{NaOH}}$  adalah volume dari natrium hidroksida LV yang digunakan untuk titrasi. Hasil dinyatakan dalam mEq asam yang digunakan tiap g zat uji.

**Prosedur untuk tablet kunyah** Pipet 30 ml asam klorida 1,0 N LV ke dalam Larutan uji sambil diaduk terus menggunakan Pengaduk magnetik selama 10 menit tepat, setelah penambahan asam. Hentikan sebentar pengadukan dan segera keluarkan zat yang lengket dari gelas piala menggunakan jarum panjang. Segera cuci jarum menggunakan 20 ml air, kumpulkan air cucian dalam gelas piala, dan lanjutkan kembali pengadukan selama 5 menit tepat. Segera titrasi kelebihan asam klorida dengan natrium hidroksida 0,5 N LV dalam waktu tidak lebih dari 5 menit sampai dicapai dengan pH 3,5 yang stabil (selama 10 detik sampai 15 detik). Hitung jumlah mEq asam yang digunakan oleh tablet yang diuji dengan rumus:

$$\text{Total mEq} = (30 \times N_{\text{HCl}}) - (V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}})$$

$N_{\text{HCl}}$  dan  $N_{\text{NaOH}}$  berturut-turut adalah normalitas dari asam klorida LV dan natrium hidroksida LV;  $V_{\text{NaOH}}$  adalah volume dari natrium hidroksida LV yang digunakan untuk titrasi. Hasil dinyatakan dalam mEq asam yang digunakan tiap g zat uji.

#### KELARUTAN DALAM ETANOL <461>

Timbang 1 ml minyak dalam gelas ukur bersumbat kaca 25 ml atau 30 ml dan masukkan ke dalam alat yang mempunyai suhu tetap yang dipertahankan pada suhu 19,8° - 20,2°. Dengan menggunakan buret berkapasitas tidak kurang dari 20 ml tambahkan etanol dengan kadar seperti dinyatakan pada monografi, tiap kali dengan 0,1 ml sampai larut sempurna kemudian tiap kali dengan 0,5 ml sampai jumlah 20 ml dan sering dikocok kuat. Catat volume etanol yang diperlukan untuk mendapatkan larutan jernih. Lanjutkan penambahan jumlah etanol dengan cara yang sama. Jika larutan menjadi berkabut atau keruh sebelum penambahan 20 ml etanol, catat volume pada saat terjadi kabut atau kekeruhan, dan juga volume pada saat kabut atau kekeruhan hilang. Jika tidak diperoleh larutan jernih dengan penambahan 20 ml etanol, ulangi pengujian dengan kadar etanol yang lebih tinggi.

##### Ketentuan yang digunakan

Larut dalam  $n$  bagian volume etanol ( $a\%$ ) atau lebih; jika larutan jernih dalam  $n$  bagian volume etanol, setelah penambahan selanjutnya dengan etanol berkekuatan sama hingga berjumlah 20 bagian volume, tetap jernih dibandingkan terhadap minyak yang tidak diencerkan.

Larut dalam  $n$  bagian volume etanol ( $a\%$ ), menjadi berkabut jika diencerkan; jika larutan jernih dalam  $n$  bagian volume menjadi berkabut dalam  $n_1$  bagian volume ( $n_1$  kurang dari 20) dan tetap berkabut setelah penambahan bertahap berjumlah 20 bagian volume etanol.

Larut dalam  $n$  bagian volume etanol ( $a\%$ ), menjadi berkabut dalam  $n_1$  bagian volume ( $n_1$  kurang dari 20); jika larutan jernih dalam  $n$  bagian volume menjadi berkabut dan tetap berkabut setelah penambahan bertahap hingga jumlah  $n_2$  bagian volume ( $n_2$  kurang dari 20), kemudian menjadi jernih. Maka kelarutan minyak menguap dalam etanol ( $a\%$ ) adalah 1 bagian volume dalam  $n$  bagian volume dan berkabut antara  $n_1$  dan  $n_2$  bagian volume.

Larut dengan kekeruhan; jika larutan etanol berwarna sedikit kebiruan sama dengan yang ditimbulkan dengan penambahan 0,5 ml perak nitrat 0,1 N dan 0,1 ml asam nitrat P pada 50 ml larutan natrium klorida P 0,0012%, campur, biarkan selama 5 menit.

#### CEMARAN SENYAWA ORGANIK MUDAH MENGUAP <471>

Metode berikut diberikan untuk penetapan cemar organik mudah menguap dalam bahan Farmakope. Metode khusus yang digunakan dan jenis metode yang diperlukan diuraikan di dalam masing-masing monografi.

Pengujian yang tidak perlu dapat diabaikan jika produsen memberikan jaminan, berdasarkan data yang jelas dari proses pembuatan dan penanganan terkendali dan penyimpanan bahan, bahwa tidak ada kecenderungan adanya pelarut beracun spesifik, dan bahan jika diuji, akan memenuhi persyaratan yang ditetapkan, seperti tertera pada *Ketentuan dan Persyaratan Umum*. [Catatan Air bebas senyawa organik seperti tertera pada metode berikut, jika dilakukan kromatografi tidak memberikan puncak ikutan yang berarti.]

**Etilen Oksida** Pengujian etilen oksida dilakukan hanya jika disebutkan dalam masing-masing monografi. Parameter larutan baku dan metode penetapan diuraikan dalam masing-masing monografi. Batas kadar tidak lebih dari 10 bpj.

##### Metode I

Lakukan kromatografi gas seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Pada prosedur berikut digunakan kromatograf gas yang dilengkapi dengan program suhu, dengan kolom tabuler terbuka berlubang lebar dengan dinding bersalut dan detektor ionisasi nyala.

**Larutan baku** Buat larutan, dalam air bebas senyawa organik atau pelarut seperti tertera pada monografi, yang mengandung 1,0 µg kloroform P dan masing-masing

2,0 µg benzen P, 1,4-dioksan P, metilen klorida P dan trikloroetilena P per ml.

**Sistem kromatografi** Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, sistem injeksi tanpa celah, kolom analitik leburan silika 0,53 mm x 30 m, diameter dalam disalut dengan fase diam G27 sambung silang secara kimia setebal 5 µm dan kolom pelindung silika 0,53 mm x 5 m, diameter dalam dideaktivasi dengan fenilmetil siloksan. Gunakan helium P sebagai gas pembawa dengan kecepatan linier lebih kurang 35 cm per detik [Catatan Dapat digunakan nitrogen P.] Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada 70° dan 260°. Atur suhu kolom sebagai berikut: pertahankan suhu 35° selama 5 menit, kemudian naikan suhu hingga 175° dengan kecepatan 8° per menit, diikuti dengan kenaikan suhu hingga 260° dengan kecepatan 35° per menit dan pertahankan suhu paling sedikit 16 menit. Suntikkan Larutan baku, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: sistem dinyatakan sesuai jika menghasilkan kromatogram yang semua komponen dalam Larutan baku terpisah, resolusi, R, antara dua komponen tidak kurang dari 1,0 dan simpangan baku relatif dari respons puncak masing-masing pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 15%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, ukur respons puncak. Identifikasi setiap puncak pada kromatogram Larutan uji, berdasarkan waktu retensi, dan hitung jumlah cemaran senyawa organik mudah menguap yang terdeteksi. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, jumlah masing-masing cemaran senyawa organik mudah menguap dalam zat uji tidak lebih dari batas seperti tertera pada Tabel 1.

Tabel 1

Cemaran senyawa organik Mudah menguap	Batas (bpj)
Benzen	100
Kloroform	50*
1,4-Dioksan	100
Metilen klorida	100
Trikloroetilen	100

\*Batas kurang dari 100 bpj berdasarkan toksisitas yang relatif lebih besar.

**Metode II**

Lakukan kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Gunakan kromatograf gas dengan teknik dinamika ruang kosong di bagian atas untuk prosedur berikut. Cemaran senyawa organik mudah menguap ditangkap dalam penangkap jerap dan gas pendorong dilepaskan. Cemaran senyawa organik mudah menguap yang terperangkap dibebaskan dari perangkap dengan

memanaskan perangkap dan mengalir kembali perangkap dengan gas pembawa ke dalam kromatograf.

**Larutan baku** Lakukan seperti tertera pada Larutan baku dalam Metode I.

**Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada Larutan uji dalam Metode I.

**Alat perangkap dan pendorong** Alat ini terdiri dari 3 bagian yang terpisah: pendorong zat uji, perangkap dan alat pembebas. Pendorong zat uji dirancang agar dapat menerima 5 ml zat uji dengan kolom air yang kedalamannya tidak kurang dari 3 cm. Ruang kosong di bagian atas yang berisi gas antara kolom air dan perangkap mempunyai jumlah volume kurang dari 15 ml. Gas pendorong yang dilewatkan melalui kolom air membentuk gelembung udara yang terbagi halus dengan diameter kurang dari 3 mm pada waktu keluar pertama kali. Gas pendorong yang dialirkan tidak lebih dari 5 mm dari dasar kolom air.

Perangkap mempunyai panjang tidak kurang dari 25 cm dan diameter dalam tidak kurang dari 2,67 mm. Perangkap dikemas dengan zat penjerap dengan panjang minimal seperti yang tertera di bawah ini, mulai dari tempat masuk gas pada perangkap dengan urutan sebagai berikut: 7,7 cm polimer 2,6-difenilena oksida; 7,7 cm silika gel dan 7,7 cm arang tempurung kelapa.

Alat pembebas harus tahan pada pemanasan perangkap yang cepat sampai 250°. Perangkap tidak boleh dipanaskan lebih dari 250°. Kondisikan perangkap terpasang pada awal penggunaan, pada suhu 225° selama semalam dengan gas inert dengan laju aliran tidak kurang dari 20 ml per menit. Pada penggunaan sehari-hari, kondisikan perangkap lebih dahulu pada suhu 225° selama 15 menit.

**Sistem kromatografi** Alat perangkap dan pendorong dihubungkan dengan kromatograf gas yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, dan kolom kaca 2,44 m x 2 mm diameter dalam berisi bahan pengisi 1% fase diam G25 pada partikel penyangga S12. Gunakan helium P sebagai gas pembawa dengan laju alir yang dipertahankan 40 ml per menit. Atur suhu kolom sebagai berikut; pertahankan pada suhu 45° selama 3 menit, kemudian naikan hingga 220° dengan kecepatan 8° per menit dan pertahankan suhu pada 220° selama 15 menit.

**Prosedur** Atur gas pendorong nitrogen P hingga laju aliran 40 ml per menit, masukkan secara terpisah masing-masing 5,0 ml Larutan baku dan Larutan uji ke dalam pendorong zat uji dan dorong selama 10 menit (lebih kurang 0,1 menit) pada suhu ruang. Setelah 10 menit, hubungkan perangkap dengan kromatograf. Atur alat ke posisi desorpsi dan mulai atur suhu kolom. Alirkan senyawa organik mudah menguap yang terperangkap ke dalam kromatograf dengan pemanasan perangkap secara cepat sampai pada suhu 180° dan pertahankan suhu ini selama 4 menit sambil aliri kembali perangkap dengan nitrogen dengan laju aliran 40 ml per menit. Rekam

kromatogram dan ukur respons puncak. Sistem dinyatakan sesuai jika menghasilkan kromatogram dengan semua komponen dalam *Larutan baku* terpisah: resolusi, *R*, antara dua komponen tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif dari respons puncak masing-masing tidak lebih dari 10%. Identifikasi setiap puncak pada kromatogram *Larutan uji*, berdasarkan waktu retensi. Hitung jumlah cemaran senyawa organik mudah menguap dalam zat uji yang digunakan. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, jumlah setiap cemaran senyawa organik mudah menguap tidak lebih dari batas seperti tertera pada *Tabel 1*.

### Metode III

Gunakan kromatograf gas dengan teknik dinamik ruang kosong di bagian atas seperti tertera pada *Metode II*, kecuali untuk deteksi dan penetapan kadar, gunakan spektrometer massa.

**Larutan baku, Larutan uji dan Alat perangkap dan pendorong** Buat seperti tertera pada *Metode II*.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Metode II* kecuali kromatograf dihubungkan dengan spektrometer massa sebagai pengganti detektor ionisasi nyala. Spektrometer massa harus mampu mencacah dari 20 unit hingga 260 unit massa atom tiap 7 detik atau kurang, menggunakan energi elektron 70 volt (nominal) secara ionisasi impak elektron. Penghubung antara kromatograf dan spektrometer massa sebaiknya seluruhnya terbuat dari kaca atau bahan sejenis kaca. Kaca dapat dideaktivasi dengan cara silanisasi menggunakan diklorodimetilsilan.

Sistem komputer yang dapat mengakuisisi secara terus-menerus dan menyimpan seluruh spektrum massa yang diperoleh selama proses kromatografi harus dihubungkan dengan spektrometer massa.

Komputer harus mempunyai perangkat lunak yang dapat mencari setiap arsip data kromatograf gas/spektrometer massa untuk ion-ion dengan massa yang spesifik dan membuat kurva kumpulan ion-ion terhadap waktu atau nomor cacah. Cara ini disebut sebagai Profil Arus Ion Terekstraksi (PAIT). Perangkat lunak juga harus tersedia untuk integrasi antara waktu tertentu atau batas nomor cacah dari kumpulan tiap PAIT.

### Metode IV

**Larutan baku** Lakukan seperti tertera pada *Larutan baku* dalam *Metode I*. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam vial dengan septum dan tutup bergerigi, berisi 1 g *natrium sulfat P*, dan disegel. Panaskan vial bersegel pada suhu 80° selama 60 menit.

**Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada *Larutan uji* dalam *Metode I*. Jika bahan tidak larut dalam air, suspensi dapat digunakan sebagai pengganti larutan jernih. Pipet 5 ml larutan ke dalam vial dengan septum dan tutup

bergerigi, berisi 1 g *natrium sulfat P*, dan disegel. Panaskan vial bersegel pada suhu 80° selama 60 menit.

**Sistem kromatografi dan Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Metode V*, kecuali pada penyuntikan, gunakan alat suntik kedap gas yang dipanaskan, dengan ruang kosong di bagian atas 1 ml.

### Metode V

Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku dan Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada *Metode I*.

**Sistem kromatografi** Kromatograf gas dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom analitik leburan silika 30 m x 0,53 mm diameter dalam yang disalut fase diam G43 setebal 3,0 µm, kolom pelindung silika 5 m x 0,5 mm diameter dalam yang dideaktivasi dengan fenilmetil siloksan dan sistem injeksi tanpa celah. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa dengan kecepatan linier lebih kurang 35 cm per detik. Suhu injektor dan suhu detektor masing-masing dipertahankan pada 140° dan 260°. Atur suhu kolom sebagai berikut: Pertahankan suhu pada 40° selama 20 menit, kemudian naikkan dengan cepat hingga suhu 240° dan pertahankan selama 20 menit.

Suntikan *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: sistem dinyatakan sesuai jika menghasilkan kromatogram dengan semua komponen dalam *Larutan baku* terpisah, resolusi, *R*, antara dua komponen tidak kurang dari 3 dan simpangan baku relatif masing-masing respons puncak pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 15%.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Metode I*, volume injeksi lebih kurang 1 µl.

### Metode VI

Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Larutan baku dan Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada *Metode I*.

**Sistem kromatografi** *Kromatograf gas* dilengkapi detektor ionisasi nyala. Kondisi kolom dan suhu kolom, dipilih dari *Tabel 2*, yang ditetapkan dalam masing-masing monografi. Gas pembawa, kecepatan linier atau laju alir, suhu detektor, dan suhu injektor disesuaikan dengan dimensi kolom dan suhu kolom yang dipilih dalam *Tabel 2*. Suntikkan *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: sistem sesuai jika menghasilkan kromatogram dengan semua komponen dalam *Larutan baku* terpisah, resolusi; *R*, antara dua komponen tidak kurang dari 1,0 dan simpangan baku relatif masing-masing respons puncak pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 15%.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Metode I*, volume injeksi lebih kurang 1  $\mu$ l.

**Metode untuk Melilena Klorida dalam Tablet Salut**

Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Batas metilen klorida adalah 500  $\mu$ g per hari, berdasarkan dosis maksimum per hari yang tertera pada penandaan.

**Larutan persediaan** Masukkan saksama 3,8  $\mu$ l (setara 5 mg) metilen klorida P ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air bebas senyawa organik sampai tanda.

**Larutan baku** [Catatan Untuk penyiapan larutan, hilangkan terlebih dahulu selaput dari tablet salut.] Masukkan sejumlah tablet utuh, setara dengan lebih kurang 1 g, ke dalam labu bersumbat kaca. Pipet 20 ml Larutan persediaan ke dalam labu tersebut, tutup rapat, letakkan dalam tangas ultrasonik sampai semua tablet hancur sempurna dan sentrifus. Pipet 2 ml beningan ke dalam vial yang dilengkapi dengan septum dan tutup logam bergerigi, dan segel. Letakkan vial dalam tangas air dengan suhu yang dipertahankan pada 85°, biarkan selama lebih kurang 20 menit.

**Larutan uji** Lakukan seperti tertera pada *Larutan baku* dengan menggunakan 20 ml air bebas senyawa organik sebagai pengganti 20 ml Larutan persediaan.

**Larutan kesesuaian sistem** Buat larutan dalam air bebas senyawa organik berisi masing-masing 5  $\mu$ g etanol P dan metilen klorida P per ml. Pindahkan 2,0 ml larutan ke dalam vial yang dilengkapi dengan septum dan tutup logam bergerigi, dan segel. Letakkan vial dalam tangas air pada suhu 85°, biarkan selama 20 menit.

**Sistem kromatografi** Kromatograf gas dilengkapi detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 1,8 m x 2 mm berisi bahan pengisi 0,2% fase diam G39 pada partikel penyangga S7. Gunakan nitrogen P sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 20 ml per menit. Suhu injektor dan suhu detektor dipertahankan pada 200°. Atur suhu kolom sebagai berikut: pertahankan suhu pada 80° selama 2 menit, kemudian naikkan sampai suhu 150° dengan kecepatan 30° per menit, kemudian pertahankan suhu 150° selama 5 menit. Suntikkan 1 ml fase gas dari Larutan kesesuaian sistem seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, R, antara etanol dan metilen klorida tidak kurang dari 1,5, dan waktu retensi relatif puncak etanol lebih kurang 0,8 terhadap puncak metilen klorida. Simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang Larutan baku tidak lebih dari 5,0%.

Tabel 2

Kondisi kromatografi	Penentuan kolom	Ukuran kolom	Suhu kolom
A	S <sub>3</sub>	2 m x 3 mm	190°
B	S <sub>2</sub>	2,1 m x 3 mm	160°
C	G <sub>16</sub>	30 m x 0,53 mm	40°
D	G <sub>39</sub>	2 m x 3 mm	65°
E	G <sub>16</sub>	2 m x 3 mm	70°
F	S <sub>4</sub>	2,5 m x 2 mm	Pertahankan 120° (35 menit), Gradien 120° - 200° (2°/menit) Pertahankan 20 menit
H	G <sub>14</sub>	2,5 m x 2 mm	Pertahankan 45° (3 menit), Gradien 45° - 120° (8°/menit) Pertahankan 15 menit
I	G <sub>27</sub>	30 m x 0,53 mm	Pertahankan 35° (5 menit), 35° - 175° (8°/menit) 175° - 260° (35°/menit) Pertahankan 16 menit
J	G <sub>16</sub>	30 m x 0,33 mm	Pertahankan 50° (20 menit), 50° - 165° (6°/menit) Pertahankan 20 menit

**Prosedur** Gunakan alat suntik kedap gas, suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 ml) gas dari ruang kosong di bagian atas *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Tetapkan, berdasarkan perbandingan waktu retensi, adanya metilen klorida dalam *Larutan uji*. Tetapkan jumlah metilen klorida yang terdeteksi, dalam µg per tablet. Hitung jumlah maksimum metilen klorida, dalam µg per tablet per hari yang diperbolehkan dalam unit dosis dengan rumus:

Jumlah maksimum yang diperbolehkan (µg/hari/tablet) =

$$\frac{500 (\mu\text{g/hari})}{\text{Dosis maksimum per hari (mg)}} \times \frac{\text{kekuatan tablet seperti yang tertera pada etiket (mg/tablet)}}{X}$$

Jumlah metilen klorida yang terdeteksi per tablet tidak boleh lebih dari jumlah maksimum yang diperbolehkan menurut hasil perhitungan.

#### CEMARAN UMUM <481>

Uji cemaran umum yang tertera pada masing-masing monografi digunakan untuk menilai profil cemaran suatu bahan. Cemaran umum didefinisikan sebagai bahan yang ada dalam senyawa obat dan/atau sediaan obat dalam jumlah tertentu mempunyai aktivitas biologi yang tidak diinginkan. Cemaran ini dapat timbul akibat sintesa, proses pembuatan sediaan, atau peruraian bahan. Dalam beberapa kasus, cemaran yang berisiko terhadap kesehatan dapat diidentifikasi. Pada bab ini masing-masing cemaran tidak akan diidentifikasi, uji terpisah mungkin diperlukan untuk memastikan bahwa cemaran yang diidentifikasi telah memenuhi persyaratan batas seperti tertera dalam definisi cemaran umum. Pemilihan uji dan penetapan kadar memungkinkan untuk menetapkan jumlah cemaran yang dapat diterima pada suatu bahan untuk digunakan.

**Laporan dan persyaratan** Jumlah cemaran umum tidak lebih dari 2,0%, kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi.

Jika pada monografi tertera batas komponen tertentu dan/atau cemaran atau produk turunan yang dapat diidentifikasi, cemaran umum tidak termasuk dalam perhitungan total cemaran kecuali dinyatakan lain dalam monografi. Komponen yang ada bersama-sama dalam bahan didefinisikan sebagai bahan tertentu dari sediaan obat yang tidak dianggap sebagai cemaran dalam konteks farmakope. Contoh komponen yang ada bersama-sama dalam bahan ini adalah campuran isomer geometrik dan optik (atau rasemat) dan antibiotik. Komponen lain yang dianggap toksik karena efek biologis tertentu yang tidak diinginkan tidak disebut sebagai komponen yang ada bersama-sama dengan bahan.

**Metode** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, perhitungan persentase dan jumlah cemaran umum ditetapkan dengan metode relatif daripada membandingkan dengan masing-masing baku pembanding. Deteksi cemaran lain yang tidak spesifik juga sesuai dengan metode ini.

Uji khas cemaran umum menggunakan teknik Kromatografi lapis tipis. Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Uji untuk senyawa sejenis atau kemurnian kromatografi dapat juga digunakan untuk evaluasi cemaran umum. Metode lain (seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi) dapat juga digunakan sebagai metode alternatif dengan alasan yang jelas. Jika tidak dicantumkan pada masing-masing monografi, gunakan metode berikut.

**Larutan uji** Buat saksama dalam pelarut seperti tertera pada monografi, hingga kadar lebih kurang 10 mg per ml. [Catatan Pemanasan atau sonikasi dapat digunakan untuk melarutkan jika hal ini tidak merusak bahan.]

**Larutan baku** Buat saksama larutan *Baku Pembanding FI* dalam pelarut seperti tertera pada monografi hingga kadar 0,01;0,05;0,1 dan 0,2 mg per ml. [Catatan Pemanasan atau sonikasi dapat digunakan untuk melarutkan jika hal ini tidak merusak bahan.]

**Prosedur** Lakukan *Kromatografi lapis tipis* menggunakan lempeng silika gel *P* setebal 0,25 mm dan *Fase gerak* seperti tertera pada monografi. Totolkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku*, gunakan aliran nitrogen *P* untuk mengeringkan bercak. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* hingga merambat lebih kurang tiga per empat tinggi lempeng. Angkat lempeng, keringkan diudara. Amati lempeng menggunakan teknik penampakan bercak yang tertera. Tentukan intensitas relatif bercak lain selain bercak utama *Larutan uji* dengan membandingkan terhadap kromatogram *Larutan baku*.

#### Petunjuk Teknik Penampak Bercak

(1) Gunakan cahaya ultra violet pada 254 nm dan 366 nm.

(2) Gunakan *iodoplatinat LP*.

(3) *Larutan A* Buat campuran 850 mg *bismut subnitrat P* dengan 40 ml air dan 10 ml *asam asetat glasial P*.

*Larutan B* Larutkan 8 g *kalium iodida P* dalam 20 ml air. Campur *Larutan A* dan *B* hingga diperoleh *Larutan persediaan* yang dapat disimpan beberapa bulan dalam botol gelap. Campur 10 ml *Larutan persediaan* dengan 20 ml *asam asetat glasial P*, encerkan dengan air sampai 100 ml, untuk larutan penampak bercak.

(4) *Pereaksi penampak bercak ninhidrin* Larutkan 200 mg *ninhidrin P* dalam 100 ml *etanol P*, panaskan lempeng setelah penyemprotan.

(5) *Pereaksi penampak bercak asam* Dalam tangas es, tambahkan perlahan-lahan dan hati-hati sambil diaduk,

10 ml *asam sulfat P* ke dalam 90 ml *etanol P*. Semprot lempeng dan panaskan sampai timbul bercak.

(6) *Pereaksi penampak bercak dikromat-asam* Tambahkan *kalium dikromat P* secukupnya ke dalam 100 ml *asam sulfat P* hingga diperoleh larutan jenuh. Semprot lempeng dan panaskan sampai timbul bercak.

(7) *Vanilin* Larutkan 1 g *vanilin P* dalam 100 ml *asam sulfat P*.

(8) *Kloramin T-asam trikloroasetat* Campur 10 ml dalam larutan *kloramin T 3 %* dalam air dengan 40 ml larutan *asam trikloroasetat P 25%* dalam *etanol P*. Buat larutan segar sebelum digunakan.

(9) *Folin-C* Tambahkan 10 g *natrium tungstat P* dan 2,5 g *natrium mobilidat P* ke dalam 70 ml air, tambahkan 5 ml larutan *asam fosfat P 85%* dan 10 ml larutan *asam klorida P 36%*, refluks larutan ini selama 10 jam.

(10) *KMnO<sub>4</sub>* Larutkan 100 mg *kalium permanganat P* dalam 100 ml air.

(11) *DAB* Campur 1 g *p-dimetilamino-benzaldehida P* dalam 100 ml *asam klorida 0,6 N*.

(12) *DAC* Campur 100 mg *p-dimetilamino-sinamaldehida P* dalam 100 ml *asam klorida 1 N*.

(13) *Besi(III) sianida* Campur sejumlah volume yang sama larutan *besi(III) klorida P 1%* dan larutan *kalium besi (II) sianida P 1%*. Gunakan segera.

(14) *Fast Blue B - Pereaksi A* larutkan 500 mg garam *Fast Blue B* dalam 100 ml air.

*Pereaksi B Natrium hidroksida 0,1 N.*

Semprot mula-mula dengan *Pereaksi A*, kemudian dengan *Pereaksi B*.

(15) *Besi(III) sianida basa* Encerkan 1,5 ml larutan *kalium besi(III) sianida P 1%* dengan air hingga 20 ml, tambahkan 10 ml larutan *natrium hidroksida P 15%*.

(16) *Pereaksi penampak bercak iodium* Buat larutan *iodium P 0,5 %* dalam *kloroform P*.

(17) Letakkan lempeng selama 10 menit dalam bejana tertutup yang telah dijenuhkan dengan uap *iodium* dan pada dasar bejana terdapat hablur *iodium P*.

(18) *Larutan A* Larutkan *kalium iodida P* dalam 50 ml air.

*Larutan B* buat larutan 500 mg *pati larut P* dalam 50 ml air panas.

Segera sebelum digunakan, campur sejumlah volume sama *Larutan A* dan *Larutan B*.

(19) *PTSS* Larutkan 20 g *asam p-toluensulfonat P* dalam 100 ml *etanol P*, semprot lempeng, keringkan selama 15 menit pada suhu 110°, amati dibawah cahaya ultra violet pada 366 nm.

(20) *Pereaksi penampak bercak o-tolidina* Larutkan 160 mg *o-tolidina P* dalam 30 ml *asam asetat glasial P*. Encerkan dengan air hingga 500 ml, tambahkan 1 g *kalium iodida P*, aduk hingga larut.

(21) Campur 3 ml larutan *asam kloroplatinat P* (1 dalam 10), dengan 97 ml air, kemudian tambahkan 100 ml larutan *kalium iodida P* (6 dalam 100) untuk membuat *pereaksi penampak bercak*.

(22) *Pereaksi penampak bercak metanol-iodium* Buat campuran *iodium LP* dan *metanol P* (1:1).

## LEMAK DAN MINYAK LEMAK <491>

Definisi dan prosedur umum berikut digunakan untuk lemak, minyak lemak, malam, resin, balsam dan zat-zat sejenis.

### Penyiapan Sampel

Bila contoh minyak menunjukkan kekeruhan yang disebabkan oleh pemisahan stearin, hangatkan wadah dalam tangas air pada suhu 50° sampai minyak jernih, atau bila minyak pada penghangatan tidak menjadi jernih, saring melalui kertas saring kering pada corong yang terletak di dalam mantel air panas. Campur dengan baik, dan timbang sekaligus sebanyak yang diperlukan untuk berbagai penetapan, sebaiknya menggunakan botol berpipet tetes, atau buret timbang. Jaga contoh tetap meleleh, jika pada suhu kamar berupa padatan, sampai diperoleh sejumlah yang diperlukan.

### Bobot Jenis

Tetapkan bobot jenis lemak atau minyak lemak seperti tertera pada *Penetapan Bobot Jenis <981>*.

### Suhu Lebur

Tetapkan suhu lebur seperti tertera pada *Penetapan Jarak Lebur atau Suhu Lebur <1021> Metode IV*.

### Bilangan Asam (Asam Lemak Bebas)

Keasaman lemak dan minyak lemak dinyatakan sebagai jumlah ml *alkali 0,1 N* yang diperlukan untuk menetralkan asam bebas dalam 10,0 g zat. Keasaman sering dinyatakan sebagai *Bilangan asam*, yaitu jumlah mg *kalium hidroksida* yang diperlukan untuk menetralkan asam bebas dalam 1,0 g zat. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan *Metode I*.

### Metode I

**Prosedur** Kecuali dinyatakan lain, timbang saksama lebih kurang 10,0 g zat, larutkan dalam labu yang berisi 50 ml campuran sama banyak *etanol P-eter P* dan telah dinetralkan terhadap *fenoftalein LP* dengan *kalium hidroksida 0,1 N* atau *natrium hidroksida 0,1 N*, kecuali dinyatakan lain. Bila contoh tidak larut dalam pelarut dingin, hubungkan labu dengan pendingin yang sesuai dan hangatkan perlahan-lahan, sambil sering dikocok sampai contoh larut. Tambahkan 1 ml *fenoftalein LP*, dan titrasi dengan *kalium hidroksida 0,1 N LV* atau *natrium hidroksida 0,1 N LV* sampai larutan berwarna merah muda lemah yang tetap setelah dikocok selama 30 detik. Hitung *Bilangan asam* atau jumlah ml *alkali 0,1 N* yang diperlukan untuk menetralkan 10,0 g contoh (asam lemak bebas). Hitung *Bilangan asam* dengan rumus:

$$56,11V \times \frac{N}{W}$$

56,11 adalah bobot molekul kalium hidroksida;  $V$  adalah volume, dalam ml;  $N$  adalah normalitas larutan kalium hidroksida atau larutan natrium hidroksida;  $W$  adalah bobot dalam g zat yang digunakan.

Jika volume kalium hidroksida 0,1 N LV atau natrium hidroksida 0,1 N LV yang diperlukan untuk titrasi kurang dari 2 ml, dapat digunakan titran lebih encer, atau jumlah contoh disesuaikan. Hasil dapat dinyatakan dalam volume titran yang digunakan atau dalam kesetaraan volume kalium hidroksida 0,1 N atau natrium hidroksida 0,1 N.

Jika minyak telah dijenuhkan dengan karbon dioksida untuk tujuan pengawetan, refluks perlahan-lahan larutan etanol-eter selama 10 menit sebelum titrasi. Minyak juga dapat dibebaskan dari karbon dioksida dengan menempatkannya pada cawan dangkal di dalam desikator vakum selama 24 jam sebelum contoh ditimbang.

### Metode II

**Prosedur** Buat 125 ml campuran sama banyak isopropanol  $P$  dan toluen  $P$ . Sebelum digunakan, tambahkan 2 ml larutan fenolftalein  $P$  1% dalam isopropanol  $P$  dan netralkan dengan basa sampai berwarna merah muda lemah. Timbang saksama sejumlah contoh cair, yang telah tercampur baik, seperti tertera pada tabel di bawah ini dan larutkan dalam campuran larutan yang sudah dinetralkan. Bila contoh tidak larut dalam pelarut dingin, hubungkan labu dengan pendingin yang sesuai dan hangatkan perlahan-lahan, sambil sering dikocok sampai contoh larut. Kocok kuat selama titrasi dengan kalium hidroksida 0,1 N LV atau natrium hidroksida 0,1 N LV sampai berwarna merah muda dengan intensitas yang sama dengan pelarut yang sudah dinetralkan. Hitung jumlah asam lemak seperti tertera pada Metode I.

Bilangan Asam	Bobot contoh (g)
0 - 1	20
1 - 4	10
4 - 15	2,5
15 - 74,9	0,5
$\geq 75,0$	0,1

### Bilangan Ester

Bilangan ester adalah jumlah mg kalium hidroksida yang diperlukan untuk menyabunkan ester dalam 1,0 g zat. Jika Bilangan penyabunan dan Bilangan asam telah ditetapkan, selisih antara keduanya menunjukkan Bilangan ester,  $\text{Bilangan ester} = \text{Bilangan penyabunan} - \text{Bilangan asam}$ .

**Prosedur** Timbang saksama sejumlah 1,5 - 2 g zat dalam labu 250 ml yang telah ditara, tambahkan 20 ml hingga 30 ml etanol  $P$  yang telah dinetralkan, kocok. Tambahkan 1 ml fenolftalein  $LP$ , dan titrasi dengan kalium hidroksida-etanol 0,5 N LV sampai asam bebas

dinetralkan. Tambahkan 25,0 ml kalium hidroksida-etanol 0,5 N LV, lakukan seperti tertera pada Bilangan penyabunan mulai dengan "Panaskan labu ..." dan penambahan fenolftalein  $LP$  dapat diabaikan. Hitung Bilangan ester dengan rumus :

$$\frac{56,11N}{W} (V_T - V_B)$$

56,11 adalah bobot molekul kalium hidroksida;  $V_T$  dan  $V_B$  berturut-turut adalah volume dalam ml dari asam klorida 0,5 N yang diperlukan dalam penetapan contoh dan penetapan blangko;  $N$  adalah normalitas larutan asam klorida;  $W$  adalah bobot dalam g zat yang digunakan.

### Bilangan Hidroksil

Bilangan Hidroksil adalah jumlah mg kalium hidroksida yang setara dengan kandungan hidroksil dalam 1,0 g zat.

**Pereaksi piridina-anhidrida asetat** Buat campuran segar, 3 bagian volume piridina  $P$  yang baru dibuka atau baru didestilasi dengan 1 bagian volume anhidrida asetat  $P$  yang baru dibuka atau baru didestilasi.

**Prosedur** Timbang saksama sejumlah zat sesuai dengan tabel di bawah ini, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca 250 ml, dan tambahkan 5,0 ml Pereaksi piridina-anhidrida asetat. Masukkan 5,0 ml Pereaksi piridina-anhidrida asetat, sebagai blangko ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca 250 ml kedua. Hubungkan kedua labu dengan pendingin refluks dengan sambungan asah yang sesuai, panaskan di atas tangas uap selama 1 jam, pada masing-masing labu tambahkan 10 ml air melalui pendingin, dan panaskan lagi di atas tangas uap selama 10 menit. Dinginkan, dan ke dalam masing-masing labu tambahkan 25 ml butanol  $P$ , yang telah dinetralkan terhadap fenolftalein  $LP$  dengan kalium hidroksida-etanol 0,5 N, dengan menuangkan 15 ml melalui masing-masing pendingin dan setelah pendingin dilepas, cuci dinding kedua labu dengan 10 ml sisanya. Ke dalam masing-masing labu tambahkan 1 ml fenolftalein  $LP$ , dan titrasi dengan kalium hidroksida-etanol 0,5 N LV. Catat volume dalam ml, yang diperlukan pada penetapan larutan uji sebagai  $T$  dan yang diperlukan oleh blangko sebagai  $B$ . Dalam labu Erlenmeyer 125 ml, campur lebih kurang 10 g zat yang ditimbang saksama, dengan 10 ml piridina  $P$  yang baru didestilasi, dan telah dinetralkan terhadap fenolftalein  $LP$ , tambahkan 1 ml fenolftalein  $LP$ , dan titrasi dengan kalium hidroksida-etanol 0,5 N LV, catat volume dalam ml, yang digunakan oleh asam bebas dalam contoh sebagai  $A$ . Hitung Bilangan hidroksil dengan rumus:

$$\left( \frac{56,11N}{W} \right) \left[ B + \left( \frac{WA}{C} \right) - T \right]$$

*W* dan *C* berturut-turut adalah bobot dalam g zat yang digunakan untuk asetilasi dan untuk penetapan asam bebas; *N* adalah normalitas kalium hidroksida-etanol; 56,11 adalah bobot molekul kalium hidroksida. Jika Bilangan asam dalam zat sudah diketahui, hitung *Bilangan hidroksil* dengan rumus:

$$\left(\frac{56,11 N}{W}\right)(B - T) + \text{Bilangan asam}$$

*W* adalah bobot dalam g zat yang digunakan dalam asetilasi; *N* adalah normalitas kalium hidroksida-etanol; 56,11 adalah bobot molekul kalium hidroksida.

Perkiraan bilangan hidroksil	Bobot contoh (g)
0 sampai 20	10
20 sampai 50	5
50 sampai 100	3
100 sampai 150	2
150 sampai 200	1,5
200 sampai 250	1,25
250 sampai 300	1,0
300 sampai 350	0,75

**Bilangan Iodum**

*Bilangan Iodum* adalah jumlah g iodum yang diserap oleh 100 g zat, pada kondisi yang ditetapkan. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, tetapkan *Bilangan Iodum* dengan *Metode I*.

**Metode I (Metode Hanus)**

**Prosedur** Timbang saksama sejumlah zat sesuai dengan tabel di bawah ini, masukkan ke dalam labu iodum 250 ml, larutkan dalam 10 ml kloroform *P*, tambahkan 25,0 ml iodo-bromida *LP*, tutup rapat, biarkan selama 30 menit di tempat terlindung cahaya, dengan sesekali dikocok. Tambahkan berturut-turut 30 ml kalium iodida *LP* dan 100 ml air, dan titrasi iodum yang dibebaskan dengan natrium tiosulfat 0,1 *N LV*, kocok kuat-kuat setelah setiap penambahan tiosulfat. Bila warna iodum menjadi agak pucat, tambahkan 3 ml kanji *LP*, dan lanjutkan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 *N LV* hingga warna biru hilang. Lakukan penetapan blangko. Hitung *Bilangan Iodum* dengan rumus:

$$\frac{126,9(V_B - V_S)N}{10W}$$

126,9 adalah bobot atom Iodum, *V<sub>B</sub>* dan *V<sub>S</sub>* berturut-turut adalah volume natrium tiosulfat 0,1 *N LV* yang digunakan untuk penetapan blangko dan penetapan contoh, dalam ml; *N* adalah normalitas kalium hidroksida-etanol; *W* adalah bobot contoh yang digunakan, dalam g.

[Catatan Bila lebih dari setengah iodobromida *LP* diserap oleh contoh, ulangi penetapan dengan

menggunakan contoh dalam jumlah lebih kecil.]

Bobot Sampel	
Perkiraan bilangan Iodum	Bobot dalam g, ±0,1
<5	3,0
5-20	1,0
21-50	0,4
51-100	0,2
101-150	0,13
151-200	0,1

**Metode II (Metode Wijs)**

**Larutan Kalium Iodida** Timbang saksama lebih kurang 10 g kalium iodida *P* masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Simpan dalam wadah terlindung cahaya.

**Indikator Larutan Kanji** Campur 1 g kanji larut *P* dengan air agak dingin untuk membuat pasta. Tambahkan air mendidih sampai dengan 100 ml sambil diaduk. Campur dan dinginkan. Gunakan hanya bagian yang jernih.

**Prosedur** Lelehkan contoh, jika tidak dalam bentuk cair. [Catatan Suhu selama pelelehan tidak boleh lebih 10° dari titik leleh zat.] Saring melalui dua buah kertas saring untuk memisahkan cemar padat dan sisa lembab. Penyaringan dapat dilakukan dalam oven pada 100° tetapi harus selesai dalam 5 menit±30 detik. Contoh harus benar-benar kering. Semua alat gelas harus benar-benar bersih dan kering. Setelah penyaringan, filtrat contoh dikondisikan pada suhu 68° - 71°±1° sebelum ditimbang. Setelah suhu 68° - 71°±1° tercapai, contoh segera ditimbang, masukkan ke dalam labu iodum 500-ml, timbang saksama seperti tertera pada tabel. [Catatan Penimbangan contoh harus sedemikian rupa sehingga terdapat kelebihan iodoklorida *LV* 50% sampai 60% dari jumlah yang ditambahkan, yang berarti, 100% sampai 150% dari jumlah yang diabsorpsi.] Tambahkan 15 ml campuran segar sikloheksan *P* dan asam asetat glasial *P* (1:1), dan aduk untuk melarutkan contoh. Tambahkan 25 ml iodo klorida *LP*, tutup rapat dan goyang hingga tercampur. Biarkan sampai suhu mencapai 25°±5°, lindungi dari cahaya, dengan sesekali dikocok, selama 1 - 2 jam, tergantung dari *Bilangan Iodum* contoh; *Bilangan Iodum* kurang dari 150, 1 jam; *Bilangan Iodum* kurang lebih sama atau lebih dari 150, 2 jam. Kemudian dalam waktu 3 menit setelah waktu reaksi yang ditentukan, tambahkan secara berturut-turut 20 ml Larutan kalium iodida dan 150 ml air bebas karbondioksida *P*, campur. Dalam waktu 30 menit, titrasi iodum yang dibebaskan dengan natrium tiosulfat 0,1 *N LV* sambil diaduk secara mekanik setiap penambahan tiosulfat. Ketika warna kuning iodum hampir hilang, tambahkan 1 - 2 ml Indikator larutan kanji, dan lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang. Lakukan titrasi blangko. Hitung *Bilangan Iodum* dengan rumus yang sama pada perhitungan *Metode I*.



### Bilangan Peroksida

**Bilangan Peroksida** adalah jumlah yang menunjukkan, dalam miliekivalen, oksigen aktif, yaitu jumlah peroksida yang terkandung dalam 1000 g zat [Catatan Uji harus segera dilakukan setelah sampling untuk mencegah oksidasi dari zat yang diuji.]

**Prosedur** Jika tidak dinyatakan lain, timbang saksama lebih kurang 5 g zat ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca 250 ml. Tambahkan 30 ml campuran asam asetat glasial P dan kloroform P (3:2), kocok untuk melarutkan, dan tambahkan 0,5 ml larutan jenuh kalium iodida P. Kocok selama 1 menit tepat dan tambahkan 30 ml air. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,01 N LV secara perlahan dengan pengocokan terus menerus sampai warna kuning hampir hilang. Tambahkan 5 ml Indikator larutan kanji LP, dan lanjutkan titrasi dengan pengocokan kuat sampai warna biru hilang. Lakukan penetapan blangko. [Catatan Volume titran yang digunakan untuk blangko tidak lebih dari 0,1 ml.] Hitung Bilangan peroksida dengan rumus:

$$\frac{1000(V_T - V_B)N}{W}$$

$V_T$  dan  $V_B$  berturut-turut adalah volume dalam ml natrium tiosulfat 0,01 N LV yang digunakan untuk penetapan contoh dan penetapan blangko;  $N$  adalah normalitas natrium tiosulfat;  $W$  adalah bobot contoh yang digunakan dalam g.

### Bilangan Penyabunan

**Bilangan Penyabunan** adalah jumlah mg kalium hidroksida yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak bebas dan menyabunkan ester yang terkandung dalam 1,0 g zat.

**Prosedur** Timbang saksama 1,5 g hingga 2 g zat, dalam labu 250 ml yang telah ditara dan tambahkan 25,0 ml kalium hidroksida-etanol 0,5 N LV. Panaskan labu diatas tangas uap, refluks dengan pendingin yang sesuai, selama 30 menit, sambil sering diputar. [Catatan Waktu refluks bisa mencapai 90 menit untuk memastikan sepenuhnya proses penyabunan, tergantung dari tipe ester yang ditetapkan.] Kemudian tambahkan 1 ml fenolftalein LP, dan titrasi kelebihan kalium hidroksida dengan asam klorida 0,5 N LV. Lakukan penetapan blangko. Titrasi dapat juga dilakukan dengan titrasi potensiometri. Hitung Bilangan penyabunan dengan rumus:

$$\frac{56,11(V_B - V_T)N}{W}$$

56,11 adalah bobot molekul kalium hidroksida;  $V_T$  dan  $V_B$  berturut-turut adalah volume dalam ml asam klorida 0,5 N LV yang digunakan dalam penetapan contoh dan penetapan blangko;  $N$  adalah normalitas asam klorida;  $W$  adalah bobot contoh yang digunakan dalam g. Jika minyak telah dijenuhkan dengan karbondioksida dengan tujuan pengawetan, tempatkan minyak tersebut

pada cawan dangkal dalam desikator vakum selama 24 jam sebelum contoh ditimbang.

### Zat Tak Tersabunkan

Zat tak tersabunkan dalam minyak atau lemak adalah zat yang tidak tersabunkan oleh alkali hidroksida, tetapi larut dalam pelarut umum lemak, dan hasil penyabunan yang larut dalam pelarut tersebut.

**Prosedur** Timbang saksama 5,0 g minyak atau lemak dalam labu Erlenmeyer 250 ml, tambahkan 50 ml larutan kalium hidroksida-etanol yang dibuat dari 12 g kalium hidroksida P dalam 10 ml air, dan encerkan dengan etanol sampai 100 ml, refluks di atas tangas uap, selama 1 jam, kocok secara berkala. Dinginkan sampai suhu dibawah 25°, pindahkan larutan ke dalam corong pisah dengan kran terbuat dari politetrafluoroetilena, bilas labu dua kali, tiap kali dengan 50 ml air yang dimasukkan ke dalam corong pisah (jangan gunakan lemak pada kran). Ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 100 ml eter P, masukkan kumpulan ekstrak eter ke dalam corong pisah lain yang berisi 40 ml air. Putar perlahan atau kocok corong pisah selama beberapa menit. [Catatan Pengocokan keras menyebabkan terbentuk emulsi yang sukar dipisahkan.] Biarkan campuran memisah dan buang lapisan bawah fasa air. Cuci ekstrak eter sebanyak dua kali, tiap kali dengan 40 ml air, dan buang lapisan bawah fasa air. Cuci ekstrak eter berturut-turut dengan 40 ml larutan kalium hidroksida P (3 dalam 100) dan 40 ml air. Ulangi pencucian menggunakan larutan kalium hidroksida-air sebanyak tiga kali. Cuci kembali kumpulan ekstrak dengan 40 ml air sampai cucian terakhir tidak memberikan warna merah pada penambahan 2 tetes fenolftalein LP. Masukkan ekstrak eter ke dalam gelas piala yang telah ditara, dan bilas corong pisah dengan 10 ml eter P, tambahkan bilasan ke dalam gelas piala. Uapkan eter di atas tangas uap hingga hampir kering, dan tambahkan 6 ml aseton P pada residu. Uapkan aseton dengan udara mengalir dan keringkan residu pada suhu 105° sampai antar penimbangan berbeda tidak lebih dari 1 mg. Hitung persentase dari zat tak tersabunkan dalam minyak atau lemak dengan rumus :

$$\left(\frac{W_R}{W_S}\right) 100$$

$W_R$  adalah bobot, dalam g, residu;  $W_S$  adalah bobot, dalam g, minyak atau lemak dari zat uji. Larutkan residu dalam 20 ml etanol P, yang telah dinetralkan terhadap fenolftalein LP, tambahkan fenolftalein LP dan titrasi dengan natrium hidroksida-etanol 0,1 N LV, sampai larutan berwarna merah muda yang tetap selama tidak kurang dari 30 detik. Jika volume natrium hidroksida-etanol 0,1 N LV yang diperlukan untuk titrasi lebih dari 0,2 ml, pemisahan lapisan belum lengkap; bobot residu tidak dapat dinyatakan sebagai zat tak tersabunkan, dan pengujian harus diulang.

**Suhu Pematatan Asam Lemak**

**Penyiapan asam lemak** Panaskan 75 ml Larutan gliserin-kalium hidroksida (dibuat dengan melarutkan 25 g kalium hidroksida P dalam 100 ml gliserin P) dalam gelas piala 800 ml hingga suhu 150°, dan tambahkan 50 ml lemak yang telah dijernihkan, dan jika perlu dilelehkan. Panaskan campuran selama 15 menit sambil sering diaduk, tetapi hindarkan suhu lebih dari 150°. Penyabunan sempurna bila campuran menjadi homogen, tanpa ada partikel yang melekat pada meniskus gelas piala. Pindahkan ke dalam gelas piala atau cawan 800 ml berisi 500 ml air yang hampir mendidih, tambahkan perlahan-lahan 50 ml asam sulfat P (3:1), dan panaskan larutan, sambil sering diaduk, sampai asam lemak memisah dengan baik sebagai lapisan jernih. Cuci dengan air mendidih sampai bebas dari asam sulfat, kumpulkan asam lemak dalam gelas piala kecil, letakkan di atas tangas uap sampai air memisah dan asam lemak jernih, saring dalam keadaan panas ke dalam gelas piala kering, dan keringkan pada suhu 105° selama 20 menit. Masukkan asam lemak hangat ke dalam wadah yang sesuai, dan dinginkan dalam tangas es sampai membeku.

**Uji kesempurnaan penyabunan** Masukkan 3 ml asam lemak yang telah kering ke dalam tabung reaksi, dan tambahkan 15 ml etanol P. Panaskan larutan hingga mendidih, dan tambahkan volume sama amonium hidroksida 6 N. Diperoleh larutan jernih.

**Prosedur** Gunakan alat yang sama seperti pada Alat penetapan suhu beku dan lakukan penetapan seperti tertera pada Prosedur dalam Penetapan Suhu Beku <1101>, "suhu beku" dibaca sebagai "suhu pematatan". Suhu pematatan asam lemak diperoleh dari harga rata-rata tidak kurang dari empat pembacaan berturut-turut titik tertinggi pada waktu suhu naik.

**Komposisi Asam Lemak**

**Larutan baku** Buat campuran ester sesuai dengan komposisi kandungan ester pada masing-masing monografi. Larutan baku dapat mengandung komponen lain [Catatan Campuran ester tersedia secara komersial.] Komposisi campuran yang tersedia secara komersial adalah sebagai berikut :

Persen	Ester Asam Lemak	Panjang Rantai Karbon	Jumlah Ikatan Rangkap
1,0	metil miristat	14	0
4,0	metil palmitat	16	0
3,0	metil stearat	18	0
3,0	metil arakidat	20	0
3,0	metil behenat	22	0
3,0	metil lignoserat	24	0
45,0	metil oleat	18	1
15,0	metil linoleat	18	2
3,0	metil linolenat	18	3
20,0	metil erukat	22	1

Komposisi campuran lain yang tersedia secara komersial

adalah sebagai berikut :

Persen	Ester Asam Lemak	Panjang Rantai Karbon	Jumlah Ikatan Rangkap
7,0	metil kaprilat	8	0
5,0	metil kaprat	10	0
48,0	metil laurat	12	0
15,0	metil miristat	14	0
7,0	metil palmitat	16	0
3,0	metil stearat	18	0
12,0	metil oleat	18	1
3,0	metil linoleat	18	2

**Larutan uji** [Catatan Jika dalam contoh terdapat asam lemak yang mengandung lebih dari 2 ikatan rangkap, hilangkan udara dari labu menggunakan gas nitrogen selama beberapa menit.] Timbang lebih kurang 100 mg contoh, masukkan ke dalam labu 50 ml yang terhubung dengan refluks-kondesor pendingin yang sesuai dan pengaduk magnet. Tambahkan 4 ml larutan natrium hidroksida metanolik 0,5 N LP dan refluks sampai letupan lemak hilang (biasanya 5 - 10 menit). Tambahkan 5 ml larutan yang dibuat dari 14 g boron trifluorida P dalam metanol P untuk membuat 100 ml, goyang untuk mencampur dan refluks selama 2 menit. Tambahkan 4 ml heptana untuk kromatografi P, melalui kondensor dan refluks selama 1 menit. Dinginkan dan pindahkan kondensor, tambahkan lebih kurang 15 ml larutan natrium klorida P jenuh, kocok dan biarkan lapisan memisah. Masukkan lapisan heptana ke dalam labu yang sesuai melalui 0,1 g natrium sulfat anhidrat P yang telah dibilas dengan heptana untuk kromatografi P. Pipet 1 ml larutan tersebut ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan heptana untuk kromatografi P sampai tanda.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang lebih kurang 20 mg masing-masing asam stearat, asam palmitat dan asam oleat, masukkan ke dalam labu 25 ml yang terhubung dengan refluks-kondesor pendingin yang sesuai dan pengaduk magnet dan lakukan sesuai prosedur pada larutan uji, mulai dari "Tambahkan 5,0 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan".

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala yang dipertahankan pada suhu 260°, sistem injeksi "splitless" dan kolom kapiler leburan silika 30 m x 0,53 mm, yang dilapisi fasa G16 dengan ketebalan 1,0 µm. Pertahankan suhu kolom pada 70° selama 2 menit setelah penyuntikan, kemudian naikan dengan kecepatan 5° per menit hingga suhu 240°, pertahankan selama 5 menit. Pertahankan suhu injektor lebih kurang 220° dan laju alir gas helium P lebih kurang 50 cm per detik.

Suntikkan Larutan kesesuaian sistem dan rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: waktu retensi relatif untuk metil palmitat, metil stearat dan metil oleat berturut-turut lebih kurang

0,87; 0,99 dan 1,0; resolusi, *R*, antara puncak metil stearat dan metil oleat tidak kurang dari 1,5 dan simpangan baku relatif dari repons puncak palmitat dan stearat pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 6,0%. Simpangan baku relatif dari perbandingan respons puncak palmitat terhadap stearat pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 1,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak ester asam lemak dari kromatogram *Larutan uji* dengan membandingkan waktu retensi puncak dari kromatogram *Larutan baku*. Ukur luas puncak dari semua puncak ester asam lemak kromatogram *Larutan uji*. Hitung persentase dari masing-masing komponen asam lemak dalam contoh dengan rumus :

$$\left(\frac{A}{B}\right)100$$

*A* adalah respons puncak dari masing-masing komponen ester asam lemak; *B* adalah jumlah respons puncak dari semua puncak, kecuali puncak pelarut dari kromatogram *Larutan uji*.

#### Penetapan dan Profil Asam Lemak Omega-3

Prosedur berikut digunakan untuk penetapan asam eikosapentaenoat (EPA) (C20:5 n-3), asam dokosaheksaenoat (DHA) (C22:6 n-3) dan total asam omega-3 yang diperoleh dari ikan, tanaman, atau sumber mikroba dalam minyak mentah dan minyak terenkapsulasi. Lindungi larutan dari cahaya, senyawa pengoksidasi, katalis oksidasi dan udara.

#### Kandungan EPA dan DHA

**Baku Perbandingan Etil Ester Asam Dokosaheksanoat BPFi; Etil Ester Asam Eikosapentanoat BPFi; Metil Trikosanoat BPFi.**

**Larutan antioksidan** Timbang saksama sejumlah tertentu butilat hidroksitoluen larutkan dalam 2,2,4-trimetilpentana *P* untuk mendapatkan larutan dengan kadar 0,05 mg per ml.

**Larutan baku internal** Timbang saksama sejumlah *Metil Trikosanoat BPFi*, masukkan dalam labu tentukur yang sesuai. Larutkan dan encerkan dengan *Larutan antioksidan* hingga diperoleh larutan dengan kadar lebih kurang 7,0 mg per ml. [Catatan Lindungi larutan terhadap penguapan selama pengujian.]

Perkiraan Jumlah EPA + DHA	Jumlah contoh yang ditimbang
30% - 50%	0,4 - 0,5 g
50% - 70%	0,3 g
70% - 80%	0,25 g

**Larutan uji 1** (untuk trigliserida) Timbang saksama lebih kurang sejumlah contoh seperti tertera pada tabel masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan antioksidan* sampai tanda. Pipet 2 ml larutan ke dalam tabung reaksi, uapkan pelarut dengan mengalirkan nitrogen *P* secara perlahan. Tambahkan 1,5 ml *natrium hidroksida P 2%* dalam metanol, tutup rapat dengan tutup politetrafluoroetilen, campur, dan panaskan dalam tangas air selama 7 menit. Dinginkan, tambahkan 2 ml larutan *boron triklorida P* dalam *metanol P* (120 g dalam 1000 ml), alirkan nitrogen *P*, tutup rapat, campur, dan panaskan dalam tangas air selama 30 menit. Dinginkan hingga suhu 40° - 50°, tambahkan 1 ml 2,2,4-trimetilpentana *P*, tutup, dan campur menggunakan vortex atau kocok kuat selama tidak kurang dari 30 detik. Segera tambahkan 5 ml larutan *natrium klorida P* jenuh yang mengandung 1 bagian natrium klorida dan 2 bagian air. [Catatan Kocok setiap kali proses. Sebelum digunakan, pisahkan larutan dari zat yang tidak larut, saring bila perlu.] Alirkan nitrogen *P*, tutup, dan campur dengan vortex atau kocok kuat selama tidak kurang dari 15 detik. Diamkan sampai lapisan atas jernih, pindahkan ke tabung yang lain. Kocok lapisan metanol sekali lagi dengan 1 ml 2,2,4-trimetilpentana *P*, dan kumpulkan ekstrak 2,2,4-trimetilpentana. Cuci kumpulan ekstrak 2 kali, masing-masing dengan 1 ml air, dan keringkan melalui *natrium sulfat anhidrat P*.

**Larutan uji 2** (untuk trigliserida) Timbang saksama lebih kurang sejumlah sama contoh seperti yang digunakan pada penyiapan *Larutan uji 1*, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan baku internal* sampai tanda. Lakukan penyiapan seperti pada *Larutan uji 1*, dimulai dengan "Pipet 2 ml larutan ke dalam tabung reaksi".

**Larutan uji 3** (untuk etil ester) Timbang saksama lebih kurang sejumlah contoh seperti tertera pada tabel, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan baku internal* sampai tanda.

**Larutan uji 4** (untuk etil ester) Timbang saksama lebih kurang sejumlah sama contoh seperti yang digunakan pada penyiapan *Larutan uji 3*, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan antioksidan* sampai tanda.

**Larutan baku 1** Timbang saksama lebih kurang 0,10 g masing-masing *Etil Ester Asam Dokosaheksanoat BPFi* dan *Etil Ester Asam Eikosapentanoat BPFi* dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan baku internal* sampai tanda.

**Larutan baku 2** Pipet 2 ml *Larutan baku 1* ke dalam tabung reaksi, uapkan pelarut dengan mengalirkan nitrogen *P* secara perlahan. Lakukan penyiapan seperti pada *Larutan uji 1*, dimulai dengan "Tambahkan 1,5 ml *natrium hidroksida P*".

**Larutan kesesuaian sistem 1** Timbang saksama lebih kurang 0,30 g masing-masing metil palmitat, metil stearat, metil arakidat dan metil behenat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *Larutan antioksidan* sampai tanda.

Larutan kesesuaian sistem 2 Timbang saksama lebih kurang 55 mg metil ester asam dokosaheksanoat dan 5 mg metil ester asam tetrakos-15-enoat (asam nervonat), masukkan dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan Larutan antioksidan sampai tanda.

Sistem kromatografi Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler leburan silika 25 m x 0,25 mm, yang dilapisi fasa G16 dengan ketebalan 0,2 µm. Pertahankan suhu detektor dan injektor pada 270° dan 250°. Atur suhu awal kolom pada 170° selama 2 menit, kemudian naikkan dengan kecepatan 3° per menit sampai 240°, pertahankan selama 2,5 menit. Gunakan Helium P sebagai gas pembawa dengan perbandingan split 1 : 200 dan laju alir lebih kurang 1 ml per menit. [Catatan Jika digunakan sistem injeksi splitless, larutan harus diencerkan 1 dalam 200.] Suntikkan Larutan kesesuaian sistem 1 dan Larutan kesesuaian sistem 2, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: dengan Larutan kesesuaian sistem 1, persen respons meningkat berturut-turut; metil palmitat, metil stearat, metil arakhidat, metil behenat; perbedaan persen respons antara metil palmitat dan metil behenat kurang dari 2,0 unit persen respons; dengan Larutan kesesuaian sistem 2, resolusi, R, antara metil ester asam dokosaheksanoat dan metil ester asam tetrakos-15-enoat tidak kurang dari 1,2. [Catatan Berkaitan dengan persyaratan kesesuaian sistem di atas, persyaratan berikut berlaku untuk analisis trigliserida tetapi tidak berlaku untuk etil ester.] Untuk trigliserida, lakukan kromatografi pada Larutan baku 1 dan Larutan baku 2, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: efisiensi derivatisasi untuk konversi dari asam lemak etil ester menjadi asam lemak metil ester tidak kurang dari 90,0% untuk masing-masing asam lemak (DHA dan EPA).

Prosedur Suntikkan secara terpisah masing-masing dua kali dengan volume sama (lebih kurang 1 µl) Larutan baku 1, Larutan baku 2, Larutan uji 1 (untuk trigliserida), Larutan uji 2 (untuk trigliserida), Larutan uji 3 (untuk etil ester), dan Larutan uji 4 (untuk etil ester) ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak. Identifikasi waktu retensi puncak baku internal untuk membandingkan kromatogram Larutan uji 3 dan Larutan uji 4 (untuk etil ester). Hitung persentase EPA dan DHA dalam trigliserida dengan rumus:

$$\left(\frac{C}{W}\right)\left(\frac{R_U}{R_S}\right)100F$$

F adalah faktor yang menggambarkan kandungan DHA (F = 0,921) dan EPA (F = 0,915) sebagai asam lemak bebas; C adalah kadar, dalam mg per ml, DHA atau EPA dalam Larutan baku 2; W adalah bobot, dalam mg, contoh yang digunakan dalam penyiapan Larutan uji 1; R<sub>S</sub> adalah perbandingan respons puncak dari EPA atau DHA relatif terhadap baku internal pada kromatogram Larutan baku 2; R<sub>U</sub> adalah respons puncak terkoreksi dari

EPA atau DHA relatif terhadap baku internal pada kromatogram Larutan uji 1. R<sub>U</sub> dihitung sebagai berikut:

$$\left(\frac{r_{U2}}{r_{T2}} - \frac{r_{U1}}{r_{T1}}\right) \times r_{T2}$$

r<sub>U2</sub> adalah respons puncak baku internal kromatogram pada Larutan uji 2; r<sub>U1</sub> adalah respons puncak yang berada pada waktu retensi yang sama dengan baku internal dari kromatogram Larutan uji 1; r<sub>T1</sub> adalah respons puncak dari EPA atau DHA pada kromatogram Larutan uji 1; dan r<sub>T2</sub> adalah respons puncak dari EPA atau DHA pada kromatogram Larutan uji 2. Hitung persentase etil ester dengan rumus:

$$\left(\frac{C}{W}\right)\left(\frac{R_U}{R_S}\right)100F$$

F adalah faktor yang menggambarkan kandungan DHA (F = 0,921) dan EPA (F = 0,915) sebagai asam lemak bebas; C adalah kadar, dalam mg per ml, dari DHA atau EPA dalam Larutan baku 1; W adalah bobot, dalam mg, contoh yang digunakan dalam penyiapan Larutan uji 3; R<sub>S</sub> adalah perbandingan respons puncak dari EPA atau DHA relatif terhadap baku internal pada kromatogram Larutan baku 1; R<sub>U</sub> adalah respons puncak terkoreksi dari EPA atau DHA relatif terhadap baku internal pada kromatogram Larutan uji 3. R<sub>U</sub> dihitung sebagai berikut:

$$\left(\frac{r_{U2}}{r_{T2}} - \frac{r_{U1}}{r_{T1}}\right) \times r_{T2}$$

r<sub>U2</sub> adalah respons puncak baku internal pada kromatogram Larutan uji 3; r<sub>U1</sub> adalah respons puncak yang berada di waktu retensi yang sama dengan baku internal dari kromatogram Larutan uji 4; r<sub>T1</sub> adalah respons puncak dari EPA atau DHA pada kromatogram Larutan uji 4; dan r<sub>T2</sub> adalah respons puncak dari EPA atau DHA pada kromatogram Larutan uji 3.

### Kandungan Total Asam Omega-3

Hitung kandungan total asam omega-3 dengan rumus:

$$EPA + DHA + ((A_{n-3} \times (EPA + DHA)) / (A_{EPA} + A_{DHA}))$$

EPA adalah kandungan dari EPA, dalam mg per g, diperoleh dari uji Kandungan EPA dan DHA; DHA adalah kandungan dari DHA, dalam mg per g, diperoleh dari uji Kandungan EPA dan DHA; A<sub>n-3</sub> adalah jumlah respons puncak sesuai dengan jumlah rantai C18 : 3 n-3, C18 : 4 n-3, C20 : 4 n-3, C21 : 5 n-3 dan C22 : 5 n-3 metil ester pada kromatogram Larutan uji 1 untuk trigliserida atau sesuai dengan etil ester pada kromatogram Larutan uji 3; A<sub>EPA</sub> adalah respons puncak sesuai dengan etil ester EPA pada kromatogram Larutan uji 3 untuk etil ester; dan A<sub>DHA</sub> adalah respons puncak

sesuai dengan metil ester DHA pada kromatogram Larutan uji 1 untuk trigliserida atau puncak sesuai dengan etil ester DHA pada kromatogram Larutan uji 3.

**Air dan Sedimen dalam Minyak Lemak**

Alat Alat sentrifus, sebaiknya mempunyai diameter ayunan (d = jarak dari ujung ke ujung tabung berputar) 38 cm sampai 43 cm dan dijalankan pada kecepatan lebih kurang 1500 rpm. Jika digunakan sentrifuga dengan dimensi berbeda, hitung kecepatan putaran yang diinginkan dengan rumus:

$$rpm = 1500 \sqrt{\frac{40,6}{d}}$$

Tabung sentrifuga berbentuk buah pir, dengan sumbat yang sesuai. Kapasitas total tiap tabung lebih kurang 125 ml. Pembagian skala jelas dan dapat dibedakan, dengan pembacaan dari dasar tabung menurut skala seperti tertera pada tabel berikut :

Volume (ml)	Pembagian skala (ml)
0 sampai 3	0,1
3 sampai 5	0,5
5 sampai 10	1,0
10 sampai 25	5,0
25 sampai 50	25,0
50 sampai 100	50,0

**Prosedur** Masukkan masing-masing 50,0 ml benzen P ke dalam 2 tabung sentrifuga, dan ke dalam tiap tabung tambahkan 50,0 ml minyak, hangatkan jika perlu untuk menggabungkan kembali stearin yang terpisah, dan campur kuat-kuat pada suhu 25°. Tutup rapat tabung, dan kocok kuat sampai isinya benar-benar tercampur, kemudian celupkan tabung ke dalam tangas air pada suhu 50° selama 10 menit. Sentrifus selama 10 menit. Baca volume campuran air dan sedimen pada dasar tiap tabung. Sentrifus berulang-ulang, setiap 10 menit sekali hingga volume campuran air dan sedimen tetap konstan pada tiga kali pembacaan berturut-turut. Jumlah volume campuran air dan sedimen dalam kedua tabung menunjukkan persentase, dalam volume, dari air dan sedimen dalam minyak.

**Bilangan Anisidin**

*Bilangan anisidin* adalah 100 kali pengukuran kerapatan optik dalam sel 1-cm dari larutan yang mengandung 1 g zat dalam 100 ml campuran pelarut dan pereaksi seperti pada metode berikut. [Catatan Lakukan penetapan secepat mungkin untuk menghindari paparan cahaya.]

**Larutan uji A** Larutkan 0,500 g zat dengan isooktan P, encerkan hingga 25,0 ml.

**Larutan uji B** Pipet 5 ml Larutan uji A, tambahkan 1,0 ml larutan p-anisidin P 2,5 g per liter dalam asam asetat glasial P, kocok, simpan terlindung cahaya.

**Larutan baku** Pipet 5 ml isooktan P, tambahkan 1,0 ml dari larutan p-anisidin P 2,5 g per liter dalam asam asetat glasial P, kocok, simpan terlindung cahaya.

**Prosedur** Ukur serapan Larutan uji A pada 350 nm menggunakan isooktan P sebagai blangko. Ukur serapan Larutan uji B pada 350 nm tepat 10 menit setelah disiapkan, gunakan Larutan baku sebagai pembanding. Hitung Bilangan anisidin dengan rumus:

$$\frac{25(1,2A_s - A_b)}{m}$$

A<sub>s</sub> adalah serapan dari Larutan uji B pada 350 nm; A<sub>b</sub> adalah serapan dari Larutan uji A pada 350 nm; m adalah bobot, dalam g, dari Larutan uji A.

**Bilangan Total Oksidasi (Totox)**

Bilangan total oksidasi dinyatakan dengan rumus:

$$2PV + AV$$

PV adalah Bilangan Peroksida

AV adalah Bilangan Anisidin

**Cemaran Logam**

**Alat**

**Labu destruksi** Gunakan tabung politetrafluoroetilen dengan volume lebih kurang 120 ml, dengan penutup yang sesuai, berkatup untuk mengatur tekanan udara di dalam wadah, dan tabung politetrafluoroetilen untuk melepaskan gas.

**Sistem** Pastikan tabung kedap udara, gunakan tekanan yang sama untuk masing-masing tabung.

**Oven "microwave"** Mempunyai frekuensi magnet pada 2450 MHz, dengan output 0 - 630±70 W dengan peningkatan 1%, program komputer digital, dinding yang dilapisi politetrafluoroetilen dengan "exhaust fan" yang kecepatannya bervariasi, sistem rotasi, dan saluran pembuangan untuk melepaskan gas.

**Spektrofotometer Serapan Atom** Merupakan peralatan dengan lampu katoda-berongga sebagai sumber radiasi dan lampu deuterium sebagai korektor latar belakang; sistem terdiri dari:

Tungku Grafit sebagai alat atomisasi untuk kadmium, tembaga, besi, timbal, nikel dan seng.

Sistem otomatis pembentukan aliran uap hidrida berkesinambungan ("continuous-flow hydride vapor generation") untuk arsen dan raksa.

**Prosedur Umum**

Perhatian Standar keselamatan dan instruksi pengoperasian alat labu destruksi tekanan tinggi dan "microwave" harus diikuti sesuai prosedur.

[Catatan Jika digunakan peralatan dengan spesifikasi yang berbeda, perlu dilakukan penyesuaian terhadap parameter peralatan.]

**Pencucian** Cuci alat gelas dan perlengkapan laboratorium dengan larutan *asam nitrat P* 10 mg per ml sebelum digunakan.

**Asam nitrat bebas cemaran logam** *Asam nitrat P* yang memenuhi persyaratan nilai maksimum arsen (As), kadmium (Cd), tembaga (Cu), besi (Fe), raksa (Hg), timbal (Pb), nikel (Ni) dan zink (Zn) berturut-turut setara 0,005 bpj; 0,005 bpj; 0,001 bpj; 0,02 bpj; 0,002 bpj; 0,001 bpj; 0,005 bpj dan 0,01 bpj.

**Asam klorida bebas cemaran logam** *Asam klorida P* yang memenuhi persyaratan nilai maksimum As, Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Ni dan Zn berturut-turut setara 0,005 bpj; 0,003 bpj; 0,003 bpj; 0,05 bpj; 0,005 bpj; 0,001 bpj; 0,004 bpj dan 0,005 bpj.

**Asam sulfat bebas cemaran logam** *Asam sulfat P* yang memenuhi persyaratan nilai maksimum As, Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Ni dan Zn berturut-turut setara 0,005 bpj; 0,002 bpj; 0,001 bpj; 0,05 bpj; 0,005 bpj; 0,001 bpj; 0,002 bpj dan 0,005 bpj.

**Larutan uji persediaan** Timbang saksama lebih kurang 0,5 g minyak lemak dalam labu destruksi, seperti tertera pada masing-masing monografi. Tambahkan 6 ml *Asam nitrat bebas cemaran logam* dan 4 ml *Asam klorida bebas cemaran logam*. Sumbat labu.

Tabel 1

	Cd	Cu	Fe	Pb	Ni	Zn
Panjang gelombang (nm)	228,8	324,8	248,3	283,5	232	213,9
Celah (nm)	0,5	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5
Arus lampu (mA)	6	7	5	5	10	7
Suhu pemijaran (°C)	800	800	800	800	800	800
Suhu atomisasi (°C)	1800	2300	2300	2200	2500	2000
Koreksi latar belakang	on	Off	off	off	off	off
Aliran nitrogen (liter per menit)	3	3	3	3	3	3

**Larutan blanko persediaan** Campur 6 ml *Asam nitrat bebas cemaran logam* dan 4 ml *Asam klorida bebas cemaran logam* ke dalam labu destruksi.

**Larutan uji 1** Masukkan labu destruksi yang berisi *Larutan uji persediaan* ke dalam oven "microwave". Destruksi dengan tiga tahap proses berikut: energi 80% selama 15 menit, energi 100% selama 5 menit dan energi 80% selama 20 menit.

Setelah selesai proses destruksi biarkan labu menjadi dingin. Tambahkan 4 ml *Asam sulfat bebas cemaran logam P*. Ulangi proses destruksi, biarkan labu menjadi dingin sampai suhu kamar. Buka labu destruksi dan pindahkan larutan jernih dan tidak berwarna yang diperoleh ke dalam labu tentukur 50-ml. Bilas labu destruksi dua kali masing-masing dengan 15 ml air dan masukkan air bilasan ke dalam labu tentukur tersebut. Tambahkan 1,0 ml larutan *magnesium nitrat P* 10 mg per ml dan 1,0 ml larutan *amonium dihidrogen fosfat P* 100 mg per ml ke dalam labu. Encerkan dengan air sampai tanda dan campur.

**Larutan blanko 1** Masukkan labu destruksi berisi *Larutan blanko persediaan* ke dalam oven "microwave". Lakukan prosedur seperti tertera pada *Larutan uji 1* mulai dari "Destruksi dengan tiga tahap proses berikut".

**Kalibrasi langsung** [Catatan Kadar larutan baku tergantung dari kandungan logam dari contoh uji.] Untuk pengukuran rutin, diperlukan tiga larutan baku, *Larutan blanko 1* dan *Larutan uji 1*.

Gunakan *Larutan uji 1* dan *Larutan blanko 1* seperti tersebut di atas atau sesuai dengan monografi. Buat tidak kurang dari tiga larutan baku yang mengandung semua elemen logam yang akan diuji. Nilai serapan *Larutan uji 1* yang diperoleh untuk masing-masing elemen logam harus berada dalam rentang kalibrasi. Semua pereaksi yang digunakan dalam pembuatan *Larutan uji 1* ditambahkan dengan kadar yang sama dengan larutan baku.

Ukur serapan masing-masing larutan dengan *Spektrofotometer Serapan Atom* dengan jumlah pengulangan yang sama untuk memperoleh pembacaan yang stabil.

Buat kurva kalibrasi dari nilai rata-rata hasil pembacaan *Larutan uji 1* sebagai fungsi kadar larutan baku. Hitung kadar elemen dalam *Larutan uji 1* yang dihitung terhadap kurva yang diperoleh.

**Penambahan baku** Masukkan sejumlah sama *Larutan uji 1* yang dibuat sesuai dengan prosedur di atas atau sesuai dengan monografi ke dalam empat buah labu tentukur. Tambahkan larutan baku dengan kadar elemen uji yang diketahui ke dalam masing-masing labu dengan volume bertingkat sehingga diperoleh larutan dengan kadar elemen uji yang menaik untuk mendapatkan kurva dengan respons yang linear. Labu tanpa penambahan larutan baku ditandai sebagai larutan uji.

Ukur serapan masing-masing larutan menggunakan *Spektrofotometer Serapan Atom*, lakukan pengulangan pengukuran yang sama untuk masing-masing larutan untuk mendapatkan hasil pembacaan yang stabil.

Buat kurva antara serapan larutan baku elemen uji terhadap kadar elemen uji. Ekstrapolasikan garis pada kurva hingga memotong sumbu x. Jarak antara titik perpotongan tersebut dengan titik nol merupakan kadar elemen uji dalam larutan uji.

### Uji Spesifik

KADNIUM (Cd), TEMBAGA (Cu), BESI (Fe),  
TIMBAL (Pb), NIKEL (Ni) DAN ZINK (Zn)

**Larutan baku persediaan** Buat larutan dengan kadar 5 µg per ml dari masing-masing elemen uji.

**Larutan baku** Masukkan masing-masing 10 µl, 20 µl dan 40 µl *Larutan baku persediaan* ke dalam tiga buah labu tentukur 10-ml. Ke dalam masing-masing labu, tambahkan 0,1 ml larutan *magnesium nitrat P* 10 mg per ml; 0,1 ml larutan *amonium dihidrogen fosfat P* 100 mg per ml; 0,6 ml *Asam nitrat bebas cemaran logam*; 0,4 ml *Asam klorida bebas cemaran logam* dan

0,4 ml *Asam sulfat bebas cemaran logam*, campur. Tambahkan 5,0 ml *Larutan uji 1* ke dalam masing-masing labu, encerkan dengan air sampai tanda, campur.

**Larutan uji 2** Masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml: 0,1 ml larutan *magnesium nitrat P 10 mg per ml*; 0,1 ml larutan *amonium dihidrogen fosfat P 100 mg per ml*; 0,6 ml *Asam nitrat bebas cemaran logam*; 0,4 ml *Asam klorida bebas cemaran logam* dan 0,4 ml *Asam sulfat bebas cemaran logam*, campur. Tambahkan 5,0 ml *Larutan uji 1*, encerkan dengan air sampai tanda, campur.

**Larutan blangko 2** Masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml: 0,1 ml larutan *magnesium nitrat P 10 mg per ml*; 0,1 ml larutan *amonium dihidrogen fosfat P 100 mg per ml*; 0,6 ml *Asam nitrat bebas cemaran logam*; 0,4 ml *Asam klorida bebas cemaran logam* dan 0,4 ml *Asam sulfat bebas cemaran logam*, campur. Tambahkan 5,0 ml *Larutan blangko 1*, encerkan dengan air sampai tanda, campur.

**Prosedur** Ukur kandungan Cd, Cu, Fe, Pb, Ni dan Zn menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom dengan tungku grafit yang sesuai. Dalam waktu berurutan, ukur serapan *Larutan blangko 1*, *Larutan baku* dan *Larutan uji 2* masing-masing tidak kurang dari tiga kali pengukuran. Nilai serapan *Larutan blangko 2* sebagai koreksi dari nilai serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji 2*. Lakukan seperti pada prosedur *Penambahan baku* dalam metode *Prosedur umum* di atas. Parameter alat yang dapat digunakan seperti tertera pada *Tabel 1*.

#### ARSEN (As) DAN RAKSA (Hg)

Ukur kandungan arsen dan raksa terhadap larutan baku arsen atau raksa pada kadar yang diketahui menggunakan metode *Kalibrasi langsung* pada *Prosedur umum* di atas, dengan sistem otomatis pembentukan aliran uap hidrida berkesinambungan.

Untuk pengujian batas spesifikasi arsen 1 bpj dan raksa 1 bpj, buat tiga larutan baku kerja dengan kadar 5 ng per ml, 10 ng per ml dan 20 ng per ml untuk masing-masing elemen uji.

Nilai serapan larutan blangko secara otomatis sebagai koreksi nilai serapan larutan uji.

#### Arsen

**Larutan blangko 3** Tambahkan 1,0 ml larutan *Kalium iodida P 200 mg per ml* ke dalam 19,0 ml *Larutan blangko 1*. Biarkan larutan pada suhu ruang selama 50 menit atau pada suhu 70° selama 4 menit.

**Larutan uji 3** Tambahkan 1,0 ml larutan *Kalium iodida P 200 mg per ml* ke dalam 19,0 ml *Larutan uji 1*. Biarkan larutan pada suhu ruang selama 50 menit atau pada suhu 70° selama 4 menit.

**Pereaksi asam 1** *Asam klorida bebas cemaran logam*.

**Pereaksi pereduksi** Larutan *natrium tetrahidroborat P 6 mg per ml* dalam *natrium hidroksida P 5 mg per ml*.

Parameter alat dapat digunakan seperti tertera pada *Tabel 2*.

#### Raksa

**Larutan blangko 4** Lakukan seperti pada *Larutan blangko 3*.

**Larutan uji 4** Lakukan seperti pada *Larutan uji 3*.

**Pereaksi asam 2** *Asam klorida bebas cemaran logam 515 mg per ml*.

**Pereaksi pereduksi 2** Larutan *timah(II) klorida P 10 mg per ml* dalam *Asam klorida bebas cemaran logam 200 mg per ml*.

Parameter alat dapat digunakan seperti tertera pada *Tabel 2*.

**Tabel 2**

	As	Hg
Panjang gelombang (nm)	193,7	253,7
Lebar celah (nm)	0,2	0,5
Arus lampu (mA)	10	4
Laju alir pereaksi asam (ml per menit)	1,0	1,0
Laju alir pereaksi pereduksi (ml per menit)	1,0	1,0
Laju alir larutan blangko, baku, uji (ml per menit)	7,0	7,0
sel absorpsi	kuarsa (dipanaskan)	kuarsa (tidak dipanaskan)
Koreksi latar belakang	off	off
Laju alir nitrogen (liter per menit)	0,1	0,1

#### KOMPOSISI STEROL

#### Pemisahan Fraksi Sterol

**Larutan pembanding A** Timbang saksama sejumlah kolesterol dan larutkan dalam *kloroform P* hingga kadar 5% (b/v).

**Larutan uji A** Timbang saksama lebih kurang 5 g contoh uji dalam labu 250 ml. Tambahkan 50 ml *kalium hidroksida-etanol 2 N*, refluks secara perlahan dengan pengocokan kuat sampai terjadi penyabunan (larutan menjadi jernih). Lanjutkan pemanasan selama 20 menit, tambahkan 50 ml air dari atas kondensor. Dinginkan hingga suhu 30°. Pindahkan larutan ke dalam corong pisah 500 ml, bilas labu dengan air sampai volume kurang lebih 50 ml. Tambahkan lebih kurang 80 ml *eter P*, kocok kuat selama 30 detik dan biarkan memisah. [Catatan *Emulsi dapat dihilangkan dengan menambahkan sedikit etanol atau methanol.*] Pisahkan lapisan bawah fasa air dan kumpulkan ke dalam corong pisah yang lain. Lakukan ekstraksi kembali sebanyak dua kali pada fase air-etanol, menggunakan 60 - 70 ml *eter P* pada tiap kali ekstraksi. Kumpulkan ekstrak eter ke dalam corong pisah, cuci dengan air tiap kali 50 ml, sampai air pencuci tidak bersifat basa terhadap *fenolfalein LP*. Saring fasa eter melalui *natrium sulfat anhidrat P* ke dalam labu 250 ml yang sudah ditara, cuci corong dan kertas saring dengan sedikit *eter P*. Destilasi eter hingga menjadi beberapa ml, keringkan dengan pengering hampa udara atau dengan aliran *nitrogen P*. Sempurnakan pengeringan pada suhu 100° selama kurang lebih 15 menit, dinginkan dalam desikator dan

timbang. Larutkan zat tidak tersabunkan dalam kloroform P hingga diperoleh larutan dengan kadar kurang 5%.

**Larutan uji B** Timbang 5 g minyak kanola dan lakukan seperti pada *Larutan uji A*, mulai dari "Tambahkan 50 ml kalium hidroksida-etanol 2 N".

**Larutan uji C** Timbang 5 g minyak biji bunga matahari dan lakukan seperti pada *Larutan uji A*, mulai dari "Tambahkan 50 ml kalium hidroksida-etanol 2 N".

**Prosedur** Lakukan Kromatografi lapis tipis seperti tertera pada Kromatografi <931>.

*Fase gerak* Buat campuran toluen P dan aseton P (95 : 5) atau campuran heksana P dan eter P (65 : 35). Masukkan campuran dalam bejana kromatografi hingga tinggi larutan lebih kurang 1 cm. Tutup bejana dengan penutup yang sesuai, biarkan selama kurang lebih 30 menit. Garis penanda pada kertas saring yang dicelupkan ke dalam larutan dapat ditempatkan pada dinding dalam bejana. [Catatan Campuran Fase gerak sebaiknya diganti setiap kali pengujian untuk menjamin reproduktibilitas kondisi eluasi.]

*Penjerap* Campuran silika gel P dengan ukuran partikel 5 - 17 µm dan ketebalan lapisan 200 µm pada lempeng poliester 20 cm x 20 cm.

*Prosedur Rendam Penjerap* dalam kalium hidroksida-etanol 0,2 N selama 10 detik, keringkan dalam lemari asam selama 2 jam dan panaskan pada suhu 100° selama 1 jam. [Catatan Pindahkan dari alat pemanas tervalidasi dan simpan lempeng dalam desikator sampai waktunya digunakan. Lempeng harus digunakan dalam rentang waktu 15 hari. Lempeng kromatografi lapis tipis tanpa pengkondisian awal juga tersedia secara komersial.] Gunakan lempeng terpisah untuk masing-masing larutan uji.

Totolkan 0,3 ml *Larutan uji A* lebih kurang 2 cm dari tepi bawah dengan ukuran bercak sekecil mungkin dan sama untuk masing-masing bercak. Sejajar dengan bercak tersebut, totolkan 2 sampai 3 µl *Larutan pembanding A* pada ujung lempeng. Masukkan lempeng dalam bejana kromatografi berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga mencapai lebih kurang 1 cm dari ujung atas lempeng. Angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan pada aliran udara panas [Catatan Hindarkan panas yang berlebihan.] atau dengan cara menempatkan lempeng dalam lemari asam. Semprot lempeng dengan 2,7-diklorofluoresin P 0,2% dalam etanol P dan amati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. [Catatan Lempeng yang dilapisi senyawa indikator UV juga tersedia secara komersial dengan tujuan penggunaan yang sama.] Pada masing-masing lempeng, tandai pita sterol yang sejajar dengan bercak *Larutan pembanding A*, termasuk pada daerah 2 - 3 mm di atas dan di bawah bercak yang sejajar dengan bercak *Larutan pembanding A*. Pindahkan silika gel pada bagian yang terdapat bercak ke atas penyaring kaca masir dengan septum berpori G3. Tambahkan 10 ml kloroform P panas, campur hati-hati dengan spatula logam, saring di bawah kondisi hampa udara, kumpulkan filtrat dalam labu yang dihubungkan dengan penyaring. Cuci residu dalam penyaring tiga kali masing-masing dengan 10 ml

eter P dan kumpulkan filtrat dalam labu yang sama. Uapkan filtrat hingga volume 4 - 5 ml, pindahkan larutan residu ke dalam tabung uji berujung runcing dan bertutup ulir yang sebelumnya sudah ditimbang, uapkan hingga kering dengan pemanasan perlahan melalui aliran nitrogen P. Larutkan residu dengan beberapa tetes aseton P dan uapkan kembali hingga kering. Panaskan pada suhu 105° selama lebih kurang 10 menit, dinginkan dalam desikator dan timbang.

Perlakukan *Larutan uji B* dan *Larutan uji C* sama seperti *Larutan uji A*.

#### Penetapan Sterol

**Larutan Uji D** Ke dalam tabung uji yang mengandung fraksi sterol yang telah dipisahkan dari contoh uji menggunakan kromatografi lapis tipis, tambahkan campuran piridin anhidrat P, heksametildisilazan P dan klorotrimetilsilan P (9:3:1) yang dibuat segar dengan perbandingan 50 µl untuk tiap mg sterol, hindarkan kondisi lembab. Sumbat tabung dengan rapat dan kocok hati-hati sampai sterol larut sempurna. Biarkan pada suhu ruang selama 15 menit dan sentrifugasi selama beberapa menit jika perlu. Gunakan beningan. [Catatan Kekeuhan tipis yang terbentuk adalah normal dan tidak menyebabkan anomali. Tetapi jika terbentuknya endapan putih keras atau terjadi warna merah muda menunjukkan adanya kelembaban atau kerusakan pereaksi. Jika hal ini terjadi, pengujian harus diulang.]

**Larutan pembanding E** Ke dalam 9 bagian sterol yang dipisahkan dari minyak kanola dengan kromatografi lapis tipis, tambahkan 1 bagian kolesterol. Lakukan yang sama seperti pada pembuatan *Larutan uji D*.

**Larutan pembanding F** Lakukan pemisahan sterol dari minyak biji bunga matahari dengan kromatografi lapis tipis. Perlakukan sama seperti *Larutan uji D*.

**Sistem kromatografi** Lakukan penetapan dengan Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca atau leburan silika 0,25 sampai 0,32 mm x 20 sampai 30 m, yang dilapisi fasa diam G27 atau G36 dengan ketebalan 0,10 sampai 0,30 µm. Pertahankan suhu injektor, detektor dan kolom berturut-turut pada 280°, 290° dan 260°±5°. Gunakan helium P sebagai gas pembawa dengan kecepatan alir 20 - 35 cm per detik atau hidrogen P dengan kecepatan alir 30 sampai 50 cm per detik. Perbandingan celah 1:50 sampai 1 : 100. Suntikkan *Larutan pembanding E* dan *Larutan pembanding F*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi β-sitosterol 20±5 menit dan semua puncak sterol yang ada terpisah. Kromatogram dari *Larutan pembanding E* menunjukkan empat puncak spesifik kolesterol, brassikasterol, kampesterol dan β-sitosterol; kromatogram dari *Larutan pembanding F* menunjukkan empat puncak spesifik kampesterol, stigmasterol, β-sitosterol dan Δ7- stigmasterol. Waktu retensi untuk sterol dengan pembanding β-sitosterol tertera pada *Tabel 3*.



**Tabel 3. Waktu Retensi Relatif Sterol dengan Dua Kolom yang Berbeda**

Identifikasi	Kolom G36	Kolom G27
Kolesterol	0,67	0,63
Brassikasterol	0,73	0,71
24-Metilen-kolesterol	0,82	0,80
Kampesterol	0,83	0,81
Kampestanol	0,85	0,82
Stigmasterol	0,88	0,87
Δ7-Kampesterol	0,93	0,92
Δ5,23-Stigmastadienol	0,95	0,95
Klerosterol	0,96	0,96
β-Sitosterol	1,00	1,00
Sitostanol	1,02	1,02
Δ5-Avenasterol	1,03	1,03
Δ5, 24-Stigmastadienol	1,08	1,08
Δ7-Stigmastenol	1,12	1,12
Δ7- Avenasterol	1,16	1,16

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah dengan volume sama (lebih kurang 1 µl) Larutan uji D, Larutan pembanding E dan Larutan pembanding F, rekam kromatogram dan ukur respons puncak dari sterol. Hitung persentase dari masing-masing sterol dalam fraksi sterol contoh uji dengan rumus:

$$\left(\frac{A}{S}\right)100$$

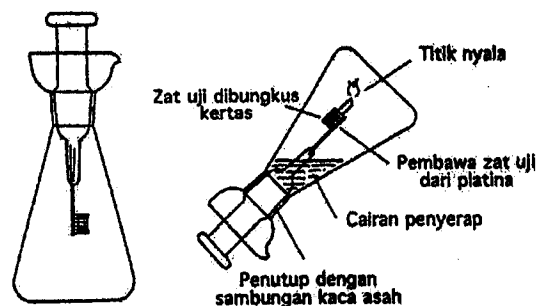
A adalah respons puncak komponen sterol dari contoh dan S adalah jumlah respons puncak komponen yang tertera dalam Tabel 3.

**PEMBAKARAN DENGAN LABU OKSIGEN <501>**

Prosedur pembakaran dengan labu oksigen merupakan langkah persiapan penetapan Brom, Klor, Iodium, Selenium dan Belerang dalam bahan obat. Pembakaran zat uji (biasanya senyawa organik) menghasilkan senyawa anorganik yang larut dalam air, yang dianalisis untuk unsur khusus menurut cara yang tertera dalam monografi atau menurut pengujian umum dalam lampiran.

Peringatan yang diberikan pada *Prosedur* sebagai tindakan pengamanan minimum dan ditekankan perlunya tindakan yang sangat hati-hati selama bekerja.

**Alat** Terdiri dari labu Erlenmeyer 500 ml ber dinding tebal atau labu yang lebih besar, bagian atas seperti mangkuk, dilengkapi dengan sumbat yang terbuat dari kaca asah, dengan pembawa zat uji, yang terdiri dari kawat platina tebal dan kuat dan sepotong kasa platina yang dilas, berukuran 2 cm x 1,5 cm.



**Alat untuk Pembakaran dengan Labu Oksigen**

**Prosedur** [Perhatikan Gunakan kaca mata pengaman dan gunakan perisai pengaman selama penetapan. Labu harus benar-benar bersih dan bebas dari pelarut organik.] Jika zat yang diuji padat, timbang zat di atas kertas saring bebas halida berukuran lebih kurang 4 cm<sup>2</sup>, dan lipat kertas untuk membungkus zat. Jika zat yang diuji cairan, timbang dalam kapsul yang telah ditara; kapsul selulosa asetat digunakan untuk cairan dengan volume tidak lebih dari 200 µl, dan kapsul gelatin digunakan untuk cairan dalam volume besar [Catatan Kapsul gelatin mungkin mengandung campuran halida atau belerang dalam jumlah cukup besar. Jika kapsul seperti itu digunakan, lakukan penetapan blangko.] Masukkan zat uji bersama kertas saring pita sumbu ke dalam pembawa zat uji kasa platina. Masukkan cairan penyerap yang disebutkan dalam masing-masing monografi atau lampiran ke dalam labu, basahkan dengan air bagian sumbat yang berhubungan dengan labu, alirkan oksigen P dengan aliran yang cepat untuk mengusir udara dari labu, goyangkan labu untuk membantu cairan menyerap oksigen [Catatan Penjenuhan cairan dengan oksigen sangat perlu untuk kesempurnaan pembakaran.] Nyalakan pita sumbu dengan alat yang sesuai. Jika pita dinyalakan di luar labu, segera masukkan pembawa zat uji ke dalam labu, balikkan labu hingga cairan penyerap membentuk sekat di sekeliling sumbat dan pegang kuat-kuat sumbat di tempat. Jika pita dinyalakan dalam sistem tertutup, labu tidak perlu di balik. Setelah pembakaran sempurna kocok labu kuat-kuat, biarkan selama tidak kurang dari 10 menit dengan sekali-sekali dikocok. Lanjutkan penetapan menurut cara yang tertera pada masing-masing monografi atau lampiran.

**PENETAPAN KADAR VITAMIN A <511>**

**METODE KIMIA**

Cara ini digunakan untuk penetapan vitamin A dalam sediaan Farmakope. Lakukan penetapan secepat mungkin, upayakan seminimum mungkin dari pengaruh cahaya, oksigen dari udara dan zat pengoksidasi lain, sebaiknya menggunakan alat kaca aktinik rendah dan gas inert.

### Pereaksi Khusus

*Eter* Gunakan *eter P* dalam waktu 24 jam setelah wadah dibuka.

*Isopropanol* Gunakan *isopropanol P* kualitas spektrofotometrik.

### Alat

*Hidrogenator* Peralatan yang sesuai untuk hidrogenasi tekanan rendah dapat dirangkai dengan cara sebagai berikut: susun dalam rak atau klem tabung sentrifus 50 ml, yang dihubungkan secara seri dengan pipa kaca dan plastik inert, dan penutup kaca, polimer atau gabus yang sesuai (hindarkan seluruh penggunaan bahan karet). Gunakan satu tabung untuk blangko dan tabung lainnya untuk zat uji. Rangkai pipa pendispersi gas hingga hidrogen dikeluarkan sebagai gelembung pada dasar masing-masing tabung. Alirkan hidrogen pertama melalui tabung blangko dan kemudian melalui tabung zat uji.

**Prosedur** Timbang, hitung, atau ukur secara saksama sediaan uji setara dengan tidak kurang dari 0,15 mg retinol tetapi tidak boleh mengandung lemak lebih dari 1 g. Bila berbentuk kapsul, tablet atau bentuk padat lainnya yang tidak dapat disabunkan secara efisien dengan cara yang diberikan, refluks dalam 10 ml air di atas tangas uap selama lebih kurang 10 menit, hancurkan bagian padat yang masih tertinggal dengan batang pengaduk kaca tumpul, hangatkan selama lebih kurang 5 menit lagi.

Masukkan ke dalam labu kaca borosilikat yang sesuai, tambahkan 30 ml *etanol P*, dan 3 ml larutan *kalium hidroksida P* (9 dalam 10). Refluks dalam alat yang keseluruhannya terbuat dari kaca borosilikat selama 30 menit. Dinginkan larutan, tambahkan 30 ml air, masukkan ke dalam corong pisah. Tambahkan 4 g serbuk halus *natrium sulfat dekahidrat P*. Ekstraksi satu kali dengan 150 ml *eter P*, kocok selama 2 menit, bila terbentuk emulsi, ekstraksi lagi 3 kali, tiap kali dengan 25 ml *eter P*. Kumpulkan ekstrak eter, bila perlu cuci dengan 50 ml air dengan menggoyang perlahan-lahan. Ulangi pencucian tiga kali, tiap kali dengan 50 ml air dengan menggoyang lebih kuat. Pindahkan ekstrak eter yang telah dicuci ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan *eter P* sampai tanda.

Uapkan 25,0 ml ekstrak eter sampai lebih kurang 5 ml. Tanpa pemanasan dan dengan bantuan aliran gas inert atau hampa udara, lanjutkan penguapan hingga lebih kurang 3 ml. Larutkan residu dalam *isopropanol P* secukupnya hingga kadar vitamin A setara 3 µg sampai 5 µg per ml atau memberikan serapan dalam rentang 0,5 hingga 0,8 pada panjang gelombang 325 nm. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 310 nm, 325 nm dan 334 nm menggunakan sel kuarsa dan gunakan *isopropanol P* sebagai blangko.

JIKA MENGANDUNG TOKOFEROL Ukur saksama sejumlah zat uji atau timbang saksama tidak kurang dari 5 tablet atau kapsul yang telah digerus, masukkan ke dalam labu kaca borosilikat. Refluks dalam alat yang keseluruhannya terbuat dari kaca borosilikat dengan 30 ml *etanol P* dan 3 ml larutan *kalium hidroksida P* (9 dalam 10) selama 30 menit. Tambahkan 2,0 g *asam sitrat monohidrat P* melalui kondenser, bilas dinding pendingin

dengan 10 ml air. Dinginkan, pindahkan larutan ke dalam corong pisah dengan bantuan 20 ml air. Tambahkan 4 g serbuk halus *natrium sulfat dekahidrat P*. Ekstraksi satu kali dengan 150 ml *eter P*, dan jika terbentuk emulsi, ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 25 ml *eter P*. Kumpulkan ekstrak eter, bila perlu cuci dengan 50 ml air dengan menggoyang perlahan-lahan. Ulangi pencucian tiga kali, tiap kali dengan 50 ml air dengan menggoyang lebih kuat. Pindahkan ekstrak eter yang telah dicuci ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan *eter P* sampai tanda. Pipet 100 ml ekstrak eter, masukkan ke dalam corong pisah, cuci satu kali dengan 50 ml larutan *kalium hidroksida P* (1 dalam 33), bila perlu tambahkan *etanol P* untuk memecahkan emulsi yang terbentuk. Cuci dengan 50 ml air dengan menggoyangkan perlahan-lahan. Ulangi pencucian tiga kali, tiap kali dengan 50 ml air dengan menggoyang lebih kuat. Pindahkan ekstrak eter yang telah dicuci ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan *eter P* sampai tanda.

Uapkan 50,0 ml ekstrak eter yang tidak tersabunkan hingga lebih kurang 5 ml. Hilangkan sisa eter tanpa pemanasan dan dengan bantuan aliran gas inert atau hampa udara, pindahkan residu eter. Larutkan residu dalam 50,0 ml *isopropanol P*.

*Bagian yang terhidrogenasi* Pipet 15 ml larutan *isopropanol P* ke dalam tabung sentrifuga 50-ml, tambahkan lebih kurang 200 mg katalis *paladium P*, aduk dengan batang pengaduk kaca dan hidrogenasi selama 10 menit dalam *Hidrogenator*. Gunakan *isopropanol P* sebagai blangko. Tambahkan lebih kurang 300 mg *tanah silika untuk kromatografi P*, aduk dengan batang pengaduk kaca, sentrifus segera hingga larutan jernih.

Pipet 1 ml larutan, uapkan pelarutnya, larutkan residu dalam 1 ml *kloroform P*, tambahkan 10 ml *asam fosfomolibdat P LV*, tidak terbentuk warna hijau biru. [Catatan Bila terjadi warna hijau biru, ulangi hidrogenasi dengan waktu lebih lama, atau gunakan katalisator yang baru.]

Ke dalam dua labu terpisah, pipet masing-masing sejumlah volume sama *Bagian yang terhidrogenasi* dan larutan *isopropanol P* tanpa perlakuan, tambahkan *isopropanol P* secukupnya hingga kadar vitamin A setara 3 - 5 µg per ml. Ukur serapan dalam rentang 0,5 - 0,8 pada 325 nm. Ukur serapan larutan *isopropanol P* tanpa perlakuan terhadap larutan *Bagian yang terhidrogenasi* sebagai blangko pada panjang gelombang 310 nm, 325 nm dan 334 nm menggunakan kuvet atau sel kuarsa.

**Perhitungan** Hitung kadar Vitamin A dengan rumus:

$$\text{Kadar (dalam mg)} = \frac{0,549A_{325}}{LC}$$

$A_{325}$  adalah serapan pada panjang gelombang 325 nm;  $L$  adalah panjang sel, dalam cm;  $C$  adalah jumlah sediaan uji dalam g, kapsul atau tablet dalam tiap 100 ml larutan akhir *isopropanol P*, pada  $A_{325}$  mempunyai harga tidak kurang dari  $[A_{325}]/1,030$  dan tidak lebih dari  $[A_{325}]/0,970$ , dimana  $[A_{325}]$  adalah serapan pada 325 nm yang telah dikoreksi dengan rumus:

$$[A_{325}] = 6,815 A_{325} - 2,555 A_{310} - 4,260 A_{334}$$

A adalah serapan pada masing-masing panjang gelombang.

Jika  $[A_{325}]$  mempunyai harga kurang dari  $A_{325}/1,030$ , gunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar (dalam mg)} = \frac{0,549 A_{325}}{LC}$$

Tiap mg Vitamin A (alkohol) setara dengan 3333 unit Vitamin A FI.

**Rentang kepercayaan** Rentang batas kesalahan yang menunjukkan tingkat ketidak sesuaian yang diharapkan pada hasil dari laboratorium yang berbeda pada  $P = 0,05$ , adalah kira-kira  $\pm 8\%$ .

### METODE KROMATOGRAFI

Prosedur kromatografi cair kinerja tinggi berikut digunakan untuk penetapan vitamin A. Jika pada prosedur disebutkan menggunakan ester vitamin A (retinil asetat atau retinil palmitat), gunakan sesuai bentuk kimia yang ada dalam bahan baku. Gunakan alat gelas aktinik rendah.

**Baku pembanding Vitamin A BPFI;** Pada saat digunakan, gunting ujung kapsul, keluarkan dan timbang larutan. Buang bagian yang tidak digunakan setelah kapsul dibuka. Simpan dalam wadah tertutup rapat, simpan pada tempat dingin dan kering atau pada lemari pendingin, lindungi dari cahaya. [Catatan Gunakan Vitamin A BPFI, semua bentuk trans retinil asetat, untuk penetapan bentuk sediaan farmasi yang pada etiket mencantumkan mengandung retinol atau ester Vitamin A (retinil asetat atau retinil palmitat).]

**Fase gerak** Gunakan *n*-heksana P.

**Larutan kesesuaian sistem** Timbang saksama sejumlah retinil palmitat dan Vitamin A BPFI, larutkan dalam *n*-heksana P hingga kadar masing-masing lebih kurang 7,5 µg per ml.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Vitamin A BPFI, larutkan dalam *n*-heksana P, jika perlu encerkan secara bertahap dan kuantitatif hingga kadar retinil asetat lebih kurang 15 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang saksama zat setara lebih kurang 15 mg ester vitamin A (retinil asetat atau retinil palmitat), masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *n*-heksana P sampai tanda. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50-ml encerkan dengan *n*-heksana P sampai tanda.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada Kromatografi <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 325 nm dan kolom 15 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi L8. Laju alir lebih kurang 1 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap Larutan kesesuaian sistem, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara retinil asetat dan retinil palmitat tidak kurang dari 10; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 3,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 40 µl) Larutan baku dan Larutan uji ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, ukur respons puncak retinil asetat dari Larutan baku dan respons puncak retinil asetat atau retinil palmitat dari Larutan uji. Hitung jumlah dalam mg, vitamin A setara dengan retinol,  $C_{20}H_{30}O$ , dalam bagian vitamin A yang digunakan dengan rumus:

$$0,872CD \left( \frac{r_v}{r_s} \right)$$

0,872 adalah faktor konversi retinil asetat dari vitamin A terhadap kesetaraan retinol; C adalah kadar Vitamin A BPFI, dalam mg per ml Larutan baku; D adalah faktor pengenceran Larutan uji, dalam ml;  $r_v$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak ester retinil dari Larutan baku dan Larutan uji. [Catatan Respons molar retinil asetat dan retinil palmitat adalah setara.]

### PENETAPAN KADAR ANTIBIOTIK SECARA IODOMETRI <521>

Metode ini digunakan untuk penetapan kadar sebagian besar senyawa antibiotik penisilin dan bentuk sediaan yang tercantum dalam Farmakope, dan titrasi iodometri merupakan metode yang paling sesuai.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Baku Pembanding FI seperti tertera pada masing-masing monografi, yang telah dikeringkan dengan cara seperti yang tertera dalam monografi, larutkan dalam pelarut seperti tertera pada Tabel Pelarut dan Kadar Akhir, encerkan secara kuantitatif dan bertahap dengan pelarut yang sama hingga kadar tertentu lebih kurang seperti yang tertera dalam Tabel. Pipet masing-masing 2 ml larutan ini ke dalam dua labu Erlenmeyer 125 ml bersumbat kaca.

Tabel Pelarut dan Kadar Akhir

Antibiotik	Pelarut*	Kadar akhir per ml
Amoksisilin	Air	1,0 mg
Ampisilin	Air	1,25 mg
Ampisilin Natrium	Dapar nomor 1	1,25 mg
Kloksasilin Natrium	Air	1,25 mg
Siklasilin	Air	1,0 mg
Dikloksasilin Natrium	Dapar nomor 1	1,25 mg
Metisilin Natrium	Dapar nomor 1	1,25 mg
Nafsilin Natrium	Dapar nomor 1	1,25 mg
Oksasilin Natrium	Dapar nomor 1	1,25 mg
Penisilin G Kalium	Dapar nomor 1	2000 unit
Penisilin G Natrium	Dapar nomor 1	2000 unit
Penisilin V Kalium	Dapar nomor 1	2000 unit
Fenetisilin Kalium	Dapar nomor 1	2000 unit

\* Kecuali dinyatakan lain, Dapar adalah Dapar fosfat seperti tertera pada Media dan Pengencer dalam Penetapan Potensi Antibiotik secara Mikrobiologi

<131>, kecuali tidak perlu dilakukan sterilisasi sebelum digunakan.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan dalam masing-masing monografi, timbang saksama sejumlah tertentu zat uji, larutkan dalam pelarut seperti tertera pada *Tabel Pelarut dan Kadar Akhir*, dan encerkan secara kuantitatif dengan pelarut yang sama hingga kadar tertentu lebih kurang seperti tertera pada *Tabel*. Pipet masing-masing 2 ml larutan ini ke dalam dua labu Erlenmeyer 125 ml bersumbat kaca.

**Prosedur Inaktivasi dan titrasi** Pada 2,0 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam labu terpisah, masing-masing tambahkan 2,0 ml *natrium hidroksida 1,0 N*, campur dengan menggoyang labu, dan biarkan selama 15 menit. Ke dalam tiap labu tambahkan 2,0 ml *asam klorida 1,2 N* dan 10,0 ml *iodum 0,01 N LV*, segera tutup labu, biarkan selama 15 menit. Titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,01 N LV*. Pada saat mendekati titik akhir, tambahkan 1 tetes *pasta kanji-iodida LP*, lanjutkan titrasi hingga warna biru hilang.

**Penetapan blangko** Ke dalam labu berisi 2,0 ml *Larutan baku* tambahkan 10,0 ml *iodum 0,01 N LV*. Bila *Larutan baku* mengandung amoksisilin atau ampisilin, segera tambahkan 0,1 ml *asam klorida 1,2 N*. Segera titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,01 N LV*. Pada saat mendekati titik akhir, tambahkan 1 tetes *pasta kanji-iodida LP*, dan lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang. Lakukan dengan cara yang sama untuk labu berisi 2,0 ml *Larutan uji*.

**Perhitungan** Hitung kesetaraan (F) dalam mikrogram (atau unit) tiap ml *natrium tiosulfat 0,01 N* yang digunakan oleh *Larutan baku*, dengan rumus :

$$\frac{(2CP)}{(B - I)}$$

C adalah kadar *Baku Pembanding* dalam mg per ml *Larutan baku*; P adalah potensi, dalam µg (atau unit) per mg *Baku Pembanding*; B adalah volume dalam ml, *natrium tiosulfat 0,01 N* yang digunakan dalam *Penetapan blangko*; I adalah volume dalam ml, *natrium tiosulfat 0,01 N* yang digunakan dalam *Inaktivasi dan titrasi*. Hitung potensi zat uji dengan rumus seperti tertera dalam masing-masing monografi.

#### PENETAPAN KADAR BARBITURAT <531>

*Baku internal, Larutan baku internal, Larutan baku dan Larutan uji*. Buat seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 0,9 m x 4 mm berisi 3 % bahan pengisi fase cair *G10* pada penyangga *S1A* dengan ukuran partikel 80 mesh hingga 100 mesh.

Pertahankan suhu kolom pada suhu  $200 \pm 10^\circ$ , injektor dan detektor masing-masing pada suhu lebih kurang  $225^\circ$ . Jika perlu suhu kolom dapat bervariasi dalam batas tersebut, hingga memenuhi spesifikasi *Kesesuaian sistem* dan diperoleh waktu retensi yang sesuai. Gunakan gas pembawa yang sesuai, seperti nitrogen kering, dengan laju aliran yang sesuai, 60 - 80 ml per menit. Lakukan penyuntikan langsung pada kolom.

[*Catatan* Jika pada alat tidak terdapat sarana untuk penyuntikan langsung pada kolom, gunakan tempat penyuntikan yang dilapisi kaca yang telah dicuci berturut-turut dengan larutan penguji asam kromat, air, metanol, kloroform, larutan trimetilklorosilan dalam kloroform (1 dalam 10), dan kloroform.]

**Kesesuaian sistem** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Suntikkan *Larutan baku* lima kali ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*. Simpangan baku relatif untuk  $R_s$  tidak lebih dari 1,5%. Resolusi, R, antara asam barbiturat dan *Baku internal* tidak kurang dari harga yang diberikan dalam masing-masing monografi, dan faktor ikutan, T, untuk kedua puncak tersebut masing-masing tidak lebih dari 2,0.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah senyawa barbiturat atau asam barbiturat dari *Larutan uji* dengan rumus seperti yang tertera dalam masing-masing monografi.  $R_U$  adalah perbandingan respons puncak asam barbiturat terhadap *Baku internal* dari *Larutan uji*;  $Q_S$  adalah perbandingan bobot asam barbiturat dan *Baku internal* dalam *Larutan baku*; C adalah kadar dalam mg per ml *Baku internal* dalam *Larutan baku internal*;  $R_S$  adalah perbandingan respons puncak asam barbiturat terhadap *Baku internal* dalam *Larutan baku*.

#### PENETAPAN KADAR GARAM BASA NITROGEN ORGANIK <541>

**Larutan baku** Kecuali dinyatakan lain, timbang saksama sejumlah *Baku Pembanding Farmakope Indonesia (BPF)*, larutkan dalam larutan *asam sulfat P* (1 dalam 70) hingga kadar lebih kurang 500 µg per ml, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Larutan uji** Jika bentuk tablet, timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet, timbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan 25 mg zat aktif, dan pindahkan ke dalam corong pisah 125 ml; atau jika bentuk cair, ukur saksama sejumlah volume setara dengan lebih kurang 25 mg zat aktif, masukkan ke dalam corong pisah 125 ml. Ke dalam corong pisah tambahkan 20 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 350 ml), dan kocok kuat selama 5 menit. Tambahkan 20 ml eter P, kocok hati-hati, saring lapisan asam ke dalam corong pisah 125 ml kedua. Kocok lapisan eter dua kali, tiap kali dengan 10 ml

larutan asam sulfat P (1 dalam 350), saring tiap lapisan asam ke dalam corong pisah 125 ml kedua dan buang lapisan eter. Pada ekstrak asam tambahkan 10 ml natrium hidroksida LP dan 50 ml eter P, kocok hati-hati, pindahkan lapisan air ke dalam corong pisah 125 ml ketiga berisi 50 ml eter P. Kocok corong pisah ketiga hati-hati, buang lapisan air, cuci larutan eter, pada corong pisah kedua dan ketiga berturut-turut dengan 20 ml air, buang lapisan air. Ekstraksi kedua larutan eter masing-masing dengan 20 ml, 20 ml, dan 5 ml larutan asam sulfat P (1 dalam 70). Lakukan ekstraksi pada corong pisah ketiga lebih dahulu, setelah itu corong pisah kedua. Campur ekstrak asam dalam labu tentukur 50-ml, encerkan dengan asam sampai tanda.

[Catatan Heksana atau heptana dapat dipakai sebagai pengganti eter jika perbandingan distribusi basa nitrogen antara air dengan heksana, atau air dengan heptana, memberikan ekstraksi sempurna dengan fase gerak.]

Prosedur Kecuali dinyatakan lain, encerkan masing-masing 5,0 ml Larutan baku dan Larutan uji dengan larutan asam sulfat P (1 dalam 70) hingga 100,0 ml dan tetapkan serapan tiap larutan pada panjang gelombang tertentu menggunakan larutan asam sulfat P (1 dalam 70) sebagai blangko. Hitung hasil penetapan kadar seperti tertera pada tiap monografi;  $A_S$  dan  $A_U$  berturut-turut adalah serapan Larutan baku dan Larutan uji.

## PENETAPAN KADAR GULA DARAH <551>

Kadar gula darah dapat ditetapkan dengan salah satu cara di bawah ini.

### A. Cara Tembaga (II) Iodida

#### Pereaksi

Larutan zink sulfat asam Larutkan 12,5 g zink sulfat P dalam lebih kurang 200 ml air, tambahkan 31,25 ml asam sulfat 1 N dan air secukupnya hingga 1000,0 ml. ukur seksama 50 ml larutan, tambahkan 3 tetes fenolftalein LP. Titrasi perlahan-lahan sambil terus menerus diaduk dengan campuran yang terdiri dari 81 ml natrium hidroksida 1 N dan air secukupnya hingga 100,0 ml: terjadi warna merah jambu stabil. Diperlukan tidak kurang dari 6,2 ml dan tidak lebih dari 6,3 ml.

Prosedur Masukkan 1 ml darah dan 8 ml Larutan zink sulfat asam ke dalam labu atau tabung reaksi. Tambahkan 1 ml campuran yang terdiri dari 81 ml natrium hidroksida 1 N dan air secukupnya hingga 100,0 ml, tutup, kocok kuat-kuat, biarkan selama beberapa menit, saring melalui penyaring kering ke dalam labu. Pada 5 ml tembaga(II) iodida alkali LP dalam tabung reaksi diameter 25 mm, panjang 200 mm, tambahkan 2 ml hingga 5 ml filtrat yang telah diukur saksama, campur perlahan-lahan, tutup labu tidak terlalu rapat. Tempatkan pada rak logam yang dibuat sedemikian rupa hingga tabung tidak bergoyang selama pemanasan dalam tangas air. Masukkan dalam tangas air sedalam lebih kurang 10 cm, panaskan selama 20 menit. Dinginkan cepat dengan air hingga suhu dibawah 30°

sambil mencegah guncangan. Asamkan dengan 5 ml asam sulfat 1 N, campur perlahan-lahan, biarkan selama tidak kurang dari 1 menit. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,005N LV segar menggunakan indikator 1 ml kanji LP. Lakukan penetapan blangko dengan mengganti filtrat darah dengan air. Hitung jumlah glukosa dalam g per 1000 ml darah dengan rumus :

$$\frac{V \times 1,13}{F}$$

V adalah jumlah dalam ml natrium tiosulfat 0,005 N LV yang diperlukan; F adalah jumlah dalam ml filtrat darah yang digunakan.

### B. Cara Mikro Kalium Heksasianoferat (III)

#### Pereaksi

Campuran oksalat-fluorida Campur hati-hati 6 g kalium oksalat P dengan 4 g natrium fluorida P bebas nitrat.

Larutkan kadmium sulfat asam Larutkan 26 g kadmium sulfat P dalam 127 ml asam sulfat 1 N dan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

Larutan natrium hidroksida Pada 55 ml natrium hidroksida 1 N tambahkan air secukupnya hingga 100,0 ml.

Kalium heksasianoferat (III) 0,005 M basa Larutkan 1,645 g kalium heksasianoferat (III) P dan 28,60 g natrium karbonat P dalam air secukupnya hingga 1000,0 ml. simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya.

Larutan zink Larutkan 50 mg zink sulfat P dan 250 g natrium klorida P dalam air secukupnya hingga 1000,0 ml.

Larutan kalium iodida Larutkan 15 g kalium iodida P dalam air untuk injeksi P secukupnya hingga 100,0 ml. Simpan dalam botol bersumbat kaca terlindung cahaya.

Larutan asam asetat Larutkan 3 g asam asetat glasial P dalam air secukupnya hingga 100,0 ml.

Pengujian terhadap pereaksi Pada 3 ml campuran segar Larutan zink dan Larutan kalium iodida (6:1), tambahkan 2 ml Larutan asama asetat dan 3 sampai 6 tetes kanji LP, tidak terjadi warna biru dalam 1 menit. Tambahkan 0,02 ml kalium heksasianoferat (III) 0,005 M basa: terjadi warna biru lemah yang nyata.

Larutan uji Masukkan 10,4 ml air ke dalam tabung sentrifuga, tambahkan dengan pipet mikro skala 0,1 ml, darah yang sebelumnya disiapkan dengan menambahkan 80 mg Campuran oksalat-fluorida per 10 ml darah. Bilas pipet hati-hati dengan cairan yang terdapat dalam tabung sentrifuga dengan pengisapan dan pengeluaran cepat. Tambahkan 1 ml Larutan kadmium sulfat asam, campur, tambahkan tetes demi tetes 0,5 ml Larutan natrium hidroksida sambil dikocok, biarkan selama beberapa menit, sentrifus dengan kecepatan tinggi. Enap tuangkan sesempurna mungkin ke dalam labu Erlenmeyer.

**Larutan pembanding** Pada waktu bersamaan buat campuran yang terdiri dari 10,5 ml air, 1 ml *Larutan kadmium sulfat asam* dan 0,5 ml *Larutan natrium hidroksida*.

**Prosedur** Pipet 10 ml *Larutan uji* ke dalam labu Erlenmeyer 30 ml dan 10 ml *Larutan pembanding* ke dalam labu Erlenmeyer 30 ml yang lain. Pada masing-masing labu tambahkan 2 ml *kalium heksasianoferat (III) 0,005 M basa*. Panaskan kedua labu di atas tangas air selama 20 menit, dinginkan dengan air dingin tanpa dikocok. Pada masing-masing labu tambahkan 3 ml campuran *Larutan zink* dan *Larutan kalium iodida (6:1)*, kocok, kemudian tambahkan 2 ml *Larutan asam asetat*, biarkan selama 5 menit. Titrasi dengan *natrium tiosulfat*

0,005 N LV dengan indikator *kanji LP* menggunakan buret mikro skala 0,01 ml. Hitung kadar gula darah dalam g glukosa per 1000 ml darah, dalam *Tabel hubungan antara kadar gula darah dengan nilai N*. Nilai N dihitung dengan rumus:

$$N = \frac{(n - n') \times 12}{10}$$

*n* adalah volume dalam ml *natrium tiosulfat 0,005 N* yang digunakan beningan yang mengandung darah;  
*n'* adalah volume dalam ml *natrium tiosulfat 0,005 N* yang digunakan dalam larutan pembanding.

**Tabel hubungan antara kadar gula darah dengan nilai N**

Satuan	Persepuluhan	Perseratusan									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0		0,02	0,03	0,05	0,07	0,08	0,10	0,12	0,14	0,15
0	1	0,17	0,19	0,20	0,22	0,24	0,25	0,27	0,29	0,31	0,32
0	2	0,34	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,45	0,47	0,48	0,50
0	3	0,52	0,54	0,56	0,57	0,59	0,61	0,63	0,65	0,66	0,68
0	4	0,70	0,72	0,74	0,75	0,77	0,79	0,81	0,83	0,84	0,86
0	5	0,88	0,90	0,92	0,93	0,95	0,97	0,99	1,01	1,02	1,04
0	6	1,06	1,08	0,10	1,11	1,13	1,15	1,17	1,19	1,20	1,22
0	7	1,24	1,25	1,27	1,29	1,31	1,32	1,34	1,36	1,38	1,39
0	8	1,41	1,43	1,45	1,46	1,45	1,50	1,52	1,54	1,55	1,57
0	9	1,59	1,61	1,67	1,64	1,66	1,68	1,70	1,72	1,73	1,75

## PENETAPAN KADAR KALSIFEROL <561>

### METODE KROMATOGRAFI

Prosedur kromatografi cair kinerja tinggi berikut adalah digunakan untuk penetapan Vitamin D sebagai kolekalsiferol atau sebagai ergokalsiferol, yang merupakan salah satu kandungan sediaan multi vitamin.

Selama penetapan, lindungi larutan yang mengandung atau yang diperoleh dari bahan uji, dan Baku Pembanding terhadap udara dan cahaya. Sebaiknya menggunakan lapisan gas inert dan alat gelas rendah aktinik.

**Baku pembanding** [Catatan Gunakan Ergokalsiferol BPF1 atau Kolekalsiferol BPF1 untuk penetapan kadar sediaan farmasi yang pada etiket mengandung vitamin D sebagai ergokalsiferol atau kolekalsiferol.] Kolekalsiferol BPF1;  $\Delta$ 4,6-Kolestadienol BPF1; Ergokalsiferol BPF1; Vitamin D BPF1 untuk Kesesuaian Sistem pada Penetapan Kadar. Simpan ditempat yang dingin, terlindung cahaya. Biarkan mencapai suhu kamar sebelum ampul

dibuka. Gunakan zat segera, dan buang sisa yang tidak terpakai.

### Pereaksi dan larutan khusus

*Eter* Gunakan *etil eter P*. Gunakan dalam waktu 24 jam setelah wadah dibuka.

*Heksan dehidrat* Siapkan kolom kromatografi dengan mengisi tabung kromatografi berukuran 60 x 8 cm dengan 500 g tanah silika untuk kromatografi, ukuran 50  $\mu$ m hingga 250  $\mu$ m, yang diaktifkan dengan pengeringan pada suhu 150° selama 4 jam seperti tertera pada *Kromatografi adsorpsi kolom* dalam *Kromatografi <931>*. Tuangkan 500 ml *heksan P* melalui kolom, dan kumpulkan eluat dalam labu bertutup kaca.

*Larutan hidroksitoluen terbutilasi* Larutkan sejumlah hidroksitoluen terbutilasi dalam heksan untuk kromatografi hingga kadar 10 mg per ml.

*Larutan kalium hidroksida dalam air* Larutkan 500 mg kalium hidroksida P dalam 500 ml air yang baru dididihkan, campur dan dinginkan. Buat larutan ini segar setiap hari.

*Larutan kalium hidroksida etanol* Larutkan 3 g kalium hidroksida P dalam 50 ml air yang baru dididihkan, tambahkan 10 ml etanol P, encerkan dengan air yang baru dididihkan hingga 100 ml, campur. Buat larutan ini segar setiap hari.

*Larutan natrium askorbat* Larutkan 3,5 g asam askorbat P dalam 20 ml natrium hidroksida 1 N. Buat larutan ini segar setiap hari.

*Larutan natrium sulfida* Larutkan 12 g natrium sulfida P dalam 20 ml air, encerkan dengan gliserin P hingga 100 ml.

**Fase gerak A** Buat campuran *asetonitril P-metanol P*-air (25:25:1). Jumlah air dan laju aliran dapat diubah-ubah agar memenuhi persyaratan *Kesesuaian sistem*.

**Fase gerak B** Buat campuran *n-amil alkohol P* dalam *heksan dehidrat P* (3 dalam 1000). Perbandingan komponen dan laju aliran dapat diubah-ubah agar memenuhi persyaratan *Kesesuaian sistem*.

**Larutan baku internal** Timbang saksama 15 mg *Δ4,6-Kolestadienol BPF*, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan campuran *toluen P* dan *Fase gerak B* (1 dalam 10) sampai tanda.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Ergokalsiferol BPF* atau *Kolekalsiferol BPF*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dalam *toluen P* tanpa pemanasan, tambahkan *toluen P* sampai tanda. Pipet 10 ml larutan persediaan ini ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *toluen P* sampai tanda. Buat larutan persediaan segar setiap hari.

#### Penetapan Kadar

*Untuk larutan mengandung minyak* Timbang saksama sejumlah zat, sebaiknya lebih dari 500 mg dan setara dengan lebih kurang 125 µg kolekalsiferol atau ergokalsiferol (5000 unit FI). Tambahkan 1 ml *Larutan natrium askorbat*, 25 ml *etanol P*, dan 2 ml *Larutan kalium hidroksida dalam air, campur*.

*Untuk kapsul atau tablet* Refluks tidak kurang dari 10 kapsul atau tablet dengan campuran 10 ml *Larutan natrium askorbat* dan 2 tetes *Larutan natrium sulfida* di atas tangas uap selama 10 menit, hancurkan setiap padatan yang tertinggal dengan batang pengaduk kaca tumpul, dan lanjutkan pemanasan selama 5 menit. Dinginkan, tambahkan 25 ml *etanol P* dan 3 ml *Larutan kalium hidroksida dalam air, dan campur*.

*Untuk sediaan kering dan dispersi dalam air* Timbang saksama sejumlah zat, sebaiknya lebih dari 500 mg dan setara dengan lebih kurang 125 µg kolekalsiferol atau ergokalsiferol (5000 unit FI). Tambahkan sedikit demi sedikit, sambil digoyang perlahan, 25 ml *etanol P*, 5 ml *Larutan natrium askorbat* dan 3 ml *Larutan kalium hidroksida dalam air, dan campur*.

*Penyabunan dan ekstraksi* Refluks sejumlah zat di atas tangas uap selama 30 menit. Dinginkan segera di bawah air mengalir, dan pindahkan campuran yang sudah tersabunkan ke dalam corong pisah, bilas labu penyabunan dua kali, tiap kali dengan 15 ml air, 10 ml *etanol P* dan dua kali, tiap kali dengan 50 ml *eter P*.

Kocok kuat campuran yang sudah tersabunkan dan bilas selama 30 detik, diamkan sampai kedua lapisan jernih. Pindahkan lapisan air ke dalam corong pisah kedua, tambahkan campuran 10 ml *etanol P* dan 50 ml *heksan P*, kocok kuat. Biarkan memisah, pindahkan fase air ke dalam corong pisah ketiga, dan pindahkan fase heksan ke corong pisah pertama, bilas corong pisah kedua 2 kali, tiap kali dengan 10 ml *heksan P*, tambahkan bilasan ke corong pisah pertama. Kocok fase air dalam corong pisah ketiga dengan 50 ml *heksan P* dan tambahkan fase heksan ke corong pisah pertama. Cuci gabungan ekstrak eter-heksan dengan mengocok kuat tiga kali, tiap kali dengan *Larutan kalium hidroksida etanol*, cuci secara kuat dengan 50 ml air sampai pencucian terakhir netral terhadap *fenolftalein P*. Tiriskan sisa tetesan air dari gabungan ekstrak eter-heksan, masukkan dua lembar kertas saring 9 cm dalam bentuk pita-pita ke dalam corong pisah dan kocok. Pindahkan ekstrak eter-heksan yang sudah dicuci ke dalam labu alas bundar, bilas corong pisah dan kertas dengan *heksan P*. Gabungkan bilasan heksan dengan ekstrak eter-heksan, tambahkan 5,0 ml *Larutan baku internal* dan 100 µl *Larutan hidroksitoluen terbutilasi* dan campur. Uapkan sampai kering dalam hampa udara dengan menggoyang dalam tangas air pada suhu tidak lebih dari 40°. Dinginkan di bawah air mengalir dan tambahkan gas nitrogen secukupnya untuk memulihkan kembali tekanan atmosfer. Segera larutkan residu dalam 5,0 ml campuran *asetonitril P-metanol P* dengan perbandingan volume yang sama atau dalam sejumlah tertentu campuran *asetonitril P-metanol P* hingga kadar vitamin D lebih kurang 25 µg per ml, untuk mendapatkan *Larutan uji*.

**Sistem kromatografi** Gunakan kromatografi yang dioperasikan pada suhu kamar dilengkapi dengan detektor ultra violet pada 254 nm, kolom pembersih baja tahan karat ukuran 30 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi L7 dan menggunakan *Fase gerak A* dan kolom analitik baja tahan karat ukuran 25 cm x 4,6 mm, berisi bahan pengisi L3 dan menggunakan *Fase gerak B*.

*Uji kesesuaian sistem kolom pembersih* Pipet 5 ml *Larutan baku* ke dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan pendingin refluks, tambahkan 2 atau 3 butir hablur *hidroksitoluen terbutilasi*. Alirkan gas nitrogen dan panaskan di atas tangas air pada suhu 90° dalam cahaya redup dan di bawah atmosfer nitrogen selama 45 menit, untuk mendapatkan larutan yang mengandung vitamin D dan pre-vitamin D. Dinginkan, tambahkan 10,0 ml *Larutan baku internal*, campur, uapkan hingga kering dalam hampa udara dengan menggoyang dalam tangas air pada suhu tidak lebih 40°. Dinginkan di bawah air mengalir, dan alirkan gas nitrogen secukupnya untuk memulihkan kembali tekanan atmosfer. Segera larutkan residu dalam 10,0 ml campuran *asetonitril P* dan *metanol P* dengan perbandingan volume sama, campur. Suntikkan 500µl larutan ini ke dalam kolom pembersih, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*. Kromatogram menunjukkan adanya puncak dengan waktu retensi antara 5 menit dan 9 menit, sesuai dengan pemisahan satu puncak tunggal dari campuran vitamin D, pre-vitamin D, dan  $\Delta 4,6-$

Kolestadienol dari senyawa lain. Bila perlu, atur kandungan air atau parameter kerja lainnya seperti tertera pada Fase gerak A.

Uji kesesuaian sistem kolom analitik Masukkan lebih kurang 100 mg Vitamin D BPFi untuk Kesesuaian Sistem pada Penetapan Kadar ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan campuran toluen P-fase gerak B ( 1 dalam 20) sampai tanda, campur. Refluks sejumlah larutan pada suhu 90° selama 45 menit dan dinginkan. Lakukan lima kali penyuntikan dari larutan ini, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada Prosedur: resolusi, R, antara trans-kolekalsiferol dan pre-kolekalsiferol tidak kurang dari 1,0 dan simpangan baku relatif untuk respons puncak kolekalsiferol tidak lebih dari 2,0%. [Catatan Kromatogram yang diperoleh pada uji ini menunjukkan waktu retensi relatif lebih kurang 0,4 untuk pre-kolekalsiferol; 0,5 untuk trans-kolekalsiferol dan 1,0 untuk kolekalsiferol.]

**Kalibrasi**

Faktor respons vitamin D Masukkan 4,0 ml Larutan baku dan 10,0 ml Larutan baku internal dalam labu tentukur 100-ml encerkan dengan Fase gerak B sampai tanda, campur untuk mendapatkan Larutan baku kerja. Simpan Larutan baku kerja pada suhu tidak lebih dari 0°, simpan bagian yang tak digunakan untuk Prosedur. Suntikkan 200µl Larutan baku kerja ke dalam kolom analitik, ukur respons puncak untuk vitamin D dan Δ4,6-Kolestadienol. Waktu retensi relatif untuk Δ4,6-Kolestadienol lebih kurang 1,3. Hitung faktor respons, F<sub>D</sub>, dengan rumus:

$$\frac{C_s}{(R_s \times C_R)}$$

C<sub>s</sub> dan C<sub>R</sub> berturut-turut adalah kadar vitamin D dan Δ4,6-Kolestadienol, dalam µg per ml, dalam Larutan baku kerja; dan R<sub>s</sub> adalah perbandingan respons puncak vitamin D terhadap Δ4,6-Kolestadienol.

Faktor respons pre-vitamin D: Pipet 4 ml Larutan baku ke dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan pendingin refluks, tambahkan 2 atau 3 butir hablur hidroksitoluen terbutilasi. Alirkan gas nitrogen P dan panaskan di atas tangas air pada suhu 90<sup>0</sup> dalam cahaya redup dan di bawah atmosfer nitrogen selama 45 menit, untuk mendapatkan larutan yang mengandung vitamin D dan pre-vitamin D. Dinginkan, pindahkan dengan bantuan Fase gerak B ke labu tentukur 100-ml yang berisi 10,0 ml Larutan baku internal,encerkan dengan Fase gerak B sampai tanda, campur, diperoleh Campuran kerja. Suntikkan 200µl Campuran kerja ini ke dalam kolom analitik, dan ukur respons puncak untuk vitamin D, pre-vitamin D dan Δ4,6-Kolestadienol. Hitung kadar (C<sub>s</sub>) vitamin D, dalam µg per ml, dalam Campuran kerja (dipanaskan) dengan rumus:

$$F_D C_R R's$$

C<sub>R</sub> adalah kadar Δ4,6-Kolestadienol, dalam µg per ml, dan R's adalah perbandingan respons puncak vitamin D terhadap Δ4,6-Kolestadienol. Hitung kadar (C'PRE) pre-vitamin D, dalam µg per ml, dalam Campuran kerja dengan rumus:

$$C'_{PRE} = C_S - C's$$

Hitung faktor respons pre-vitamin D, F<sub>PRE</sub>, dengan rumus:

$$(F_D R's C'_{PRE}) / (R'_{PRE} C's)$$

R'PRE adalah perbandingan respons puncak pre-vitamin D terhadap Δ4,6-Kolestadienol. [Catatan Nilai F<sub>PRE</sub> ditetapkan dua kali pada hari yang berlainan, dapat digunakan untuk seluruh prosedur.]

Prosedur Suntikkan 500µl Larutan uji ke dalam kolom pembersih, dan tampung dalam labu alas bulat fraksi yang keluar pada 0,7 - 1,3 relatif terhadap waktu retensi puncak campuran vitamin D seperti tertera pada Uji kesesuaian sistem kolom pembersih . Tambahkan 50µl Larutan hidroksitoluen terbutilasi, campur dan uapkan dalam hampa udara sampai kering dalam tangas air pada suhu tidak lebih dari 40° sambil digoyang. Dinginkan di bawah air mengalir dan alirkan gas nitrogen secukupnya untuk memulihkan kembali tekanan atmosfer. Segera larutkan residu dalam 5,0 ml campuran toluen P- metanol P (1 dalam 20). Suntikkan 200µl larutan ini ke dalam kolom analitik, rekam kromatogram dan ukur respons vitamin D, pre- vitamin D, dan Δ4,6-Kolestadienol. Hitung kadar kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) atau ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), dalam µg per ml, dalam Larutan uji dengan rumus:

$$(R''_D F_D + R''_{PRE} F_{PRE}) C''_R$$

R''<sub>D</sub> adalah perbandingan respons puncak vitamin D terhadap Δ4,6-Kolestadienol; R''<sub>PRE</sub> adalah perbandingan respons puncak pre-vitamin D terhadap Δ4,6-Kolestadienol; C''<sub>R</sub> adalah kadar Δ4,6-Kolestadienol, dalam µg per ml Larutan uji.

**METODE KIMIA**

Prosedur berikut ini digunakan untuk penetapan vitamin D sebagai suatu kandungan dalam sediaan Farmakope.

Lakukan penetapan dengan cepat, selama percobaan dilakukan harus diusahakan agar paparan udara dan cahaya aktinik serendah mungkin, sebaiknya menggunakan lapisan gas inert dan peralatan gelas rendah aktinik.

**Baku pembanding** [Catatan Gunakan Ergokalsiferol BPFi atau Kolekalsiferol BPFi untuk penetapan kadar sediaan farmasi yang pada etiket mengandung vitamin D sebagai ergokalsiferol atau kolekalsiferol.] Kolekalsiferol BPFi; Ergokalsiferol BPFi.



### Pereaksi dan larutan khusus

*Tanah Fuller untuk kromatografi* Gunakan tanah fuller untuk kromatografi yang mempunyai kandungan air dengan susut pengeringan antara 8,5% dan 9,0%.

*Heksan P* Gunakan *heksan P* seperti tertera pada *Pereaksi, Indikator dan Larutan*, bila perlu didestilasi kembali agar memenuhi persyaratan tambahan berikut ini: *Kemurnian spektral* Ukur dalam kuvet 1 cm secara spektrofotometri pada 300 nm terhadap udara sebagai blangko; serapan tidak lebih dari 0,070.

*Etilen diklorida* Murnikan melalui kolom granul silika gel (20 mesh hingga 200 mesh).

*Larutan kalium hidroksida* Larutkan 500 g kalium hidroksida *P* dalam air hingga 1000 ml.

*Larutan hidroksi toluen terbutilasi* Larutkan 10 mg hidroksitoluen terbutilasi *P* dalam 100 ml etanol *P*. Buat larutan ini segar setiap hari.

*Eter* Gunakan eter yang baru didestilasi, buang 10% destilat awal dan destilat akhir.

*Pereaksi warna* Buat 2 larutan persediaan sebagai berikut:

*Larutan A* Keluarkan tanpa menimbang, seluruh kristal kering antimon triklorida *P* dari botol yang berisi 113 g zat yang belum pernah dibuka sebelumnya. Masukkan ke dalam labu yang berisi lebih kurang 400 ml *Etilen diklorida P*. Tambahkan lebih kurang 2 g alumina anhidrat *P*, campur, dan saring melalui kertas saring ke dalam wadah kaca jernih bersumbat kaca dan terkalibrasi pada 500 ml. Encerkan dengan *etilen diklorida P* sampai tanda, campur: serapan larutan tidak lebih dari 0,070, diukur dalam kuvet 20 mm pada 500 nm menggunakan spektrofotometer terhadap blangko *etilen diklorida P*.

*Larutan B* Campur di dalam lemari asam, 100 ml *asetil klorida P* dan 400 ml *etilen diklorida P*. Campur 45 ml *Larutan A* dan 5 ml *Larutan B* untuk mendapatkan *Pereaksi warna*. Simpan dalam wadah tertutup rapat, dan gunakan dalam 7 hari, buang pereaksi jika terbentuk warna.

### Tabung Kromatografi

*Kolom pertama* Susun untuk mendapatkan peralatan kromatografi kolom menurun, sebuah tabung berdiameter dalam 2,5 cm, panjang lebih kurang 25 cm, dan menyempit menjadi berdiameter 8 mm sepanjang 5 cm pada ujung bawah, masukkan kaca masir berporositas besar atau sumbat kecil wol kaca pada batas penyempitan. Bagian yang menyempit dapat dilengkapi dengan kran plastik inert.

*Kolom kedua* Pilih tabung yang terdiri dari tiga bagian: 1. Bagian atas yang melebar, dengan diameter dalam 18 mm dan panjang lebih kurang 14 cm; 2. Bagian tengah dengan diameter dalam 6 mm dan panjang lebih kurang 25 cm, dan 3. Tabung bagian bawah yang menyempit dan runcing untuk pengeluaran dengan panjang lebih kurang 5 cm. Masukkan sumbat kecil wol kaca 1 cm di sebelah atas bagian yang menyempit.

### Kolom kromatografi

*Kolom pertama* Pada lebih kurang 125 ml *isooktan P* pada botol bermulut lebar dan bertutup ulir, tambahkan

25 g tanah silika untuk kromatografi, dan kocok sampai terbentuk massa kental. Tambahkan 10 ml *polietilen glikol 600 P* tetes demi tetes sambil diaduk kuat. Buka tutup botol, kocok kuat selama 2 menit. Tuangkan lebih kurang setengah bagian massa kental ke dalam tabung kromatografi dan biarkan mengendap oleh gravitasi. Kemudian pasang pompa pengisap dan tambahkan sisa suspensi sedikit demi sedikit, dengan memampatkan setiap kali menggunakan alat penekan. Jika terbentuk permukaan yang padat, hentikan pompa pengisap dan tambahkan 2 ml *isooktan P*.

*Kolom kedua* Isi bagian tengah tabung dengan 3 g tanah fuller untuk kromatografi *P* yang agak kasar dengan bantuan pompa penghisap berdaya lemah (lebih kurang 125 mm raksa).

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Baku pembanding*, larutkan dalam *isooktan P* hingga kadar lebih kurang 250 µg per ml. Simpan dalam lemari pendingin. Pada saat penetapan, pipet 1 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 50 ml, uapkan pelarut dengan aliran nitrogen *P*, larutkan dan encerkan residu dengan *etilen diklorida P* sampai tanda.

*Larutan uji* Timbang atau ukur saksama sejumlah contoh setara dengan tidak kurang dari 125 µg, tetapi sebaiknya setara dengan lebih kurang 250 µg ergokalsiferol (10.000 unit FI). Jika hanya ada sedikit atau tidak ada vitamin A sama sekali dalam contoh, tambahkan lebih kurang 1,5 mg vitamin A asetat (setara dengan 3000 unit FI) untuk memberikan pita pemandu dalam kromatografi berikutnya.

Untuk kapsul atau tablet, refluks tidak kurang dari 10 buah dalam 10 ml air di atas tangas uap selama lebih kurang 10 menit, hancurkan sisa padatan dengan batang pengaduk kaca dan hangatkan lagi selama 5 menit.

Tambahkan sejumlah volume *Larutan kalium hidroksida* sebanyak 2,5 ml untuk setiap gram contoh, tetapi tidak kurang dari total 3,0 ml. Tambahkan 10 ml *larutan hidroksi toluen terbutilasi* dan 20 ml *etanol P*. Refluks kuat di atas tangas uap selama 30 menit. Dinginkan, pindahkan campuran yang sudah tersabunkan ke dalam corong pisah, bilas labu penyabunan tiga kali tiap kali dengan 10 ml air kemudian bilas tiga kali tiap kali dengan 50 ml *eter P*, tambahkan setiap bilasan ke dalam corong pisah. Tambahkan lebih kurang 4 g *natrium sulfat dekahidrat P* ke dalam corong pisah, dan ekstraksi dengan mengocok selama 2 menit. Jika terbentuk emulsi, ekstraksi tiga kali tiap kali dengan 25 ml *eter P*. Gabungkan ekstrak eter, jika perlu cuci dengan 50 ml air sambil digoyang lemah. Ulangi pencucian beberapa kali dengan pengocokan lebih kuat, tiap kali menggunakan 50 ml air sampai pencucian terakhir tidak menunjukkan warna merah muda pada penambahan *fenolftalein LP*. Pindahkan ekstrak eter yang sudah dicuci ke dalam labu tentukur 250-ml, encerkan dengan *eter P* sampai tanda, campur. Pindahkan seluruh atau sejumlah volume yang diukur saksama yang mengandung 250 µg ke dalam gelas piala 400 ml berisi lebih kurang 5 g *natrium sulfat anhidrat P*. Aduk selama 2 menit, enaptuangkan larutan

ke dalam gelas piala kedua. Bilas natrium sulfat tiga kali tiap kali dengan 25 ml eter P, tambahkan tiap bilasan ke bagian utama. Uapkan di atas tangas uap hingga lebih kurang 30 ml, pindahkan konsentrat ke dalam labu penguapan alas bulat. Bilas gelas piala tiga kali tiap kali dengan 10 ml eter P, tambahkan bilasan ke dalam labu. Uapkan sisa pelarut dengan sempurna di atas tangas air pada suhu tidak lebih dari 400 dengan bantuan hampa udara, atau dengan aliran gas nitrogen pada suhu kamar. Larutkan residu dalam sedikit heksan P, pindahkan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan heksan P sampai tanda, campur untuk mendapatkan Larutan uji.

#### Prosedur

**Kromatografi kolom pertama** Segera setelah 2 ml isooktan P habis dari permukaan Kolom pertama, pipet 2 ml Larutan uji ke dalam kolom. Setelah meniskus Larutan uji mencapai permukaan kolom, tambahkan 2 ml pertama dari tiga kali 2 ml heksan P, tambahkan tiap bagian berturut-turut sebelum larutan habis masuk ke dalam kolom. Lanjutkan penambahan heksan P 5 - 10 ml sampai jumlah penambahan adalah 100 ml. Jika perlu, atur laju aliran antara 3 ml dan 6 ml per menit dengan memberikan tekanan lemah pada bagian atas tabung kromatografi.

Buang 20 ml eluen pertama, tampung sisanya. Amati kolom di bawah cahaya ultra violet pada beberapa interval selama kromatografi berlangsung, dan hentikan aliran jika batas pita yang berfluoresensi yang menunjukkan vitamin A berada lebih kurang 5 mm dari dasar kolom. (Lampu ultra violet harus memberikan radiasi lemah pada daerah 300 nm. Seringkali diperlukan penggunaan celah atau tabir sempit dengan lampu perdagangan untuk mengurangi jumlah radiasi hingga persyaratan minimum untuk mendeteksi vitamin A dalam kolom).

Pindahkan eluat ke dalam labu penguapan yang sesuai, uapkan heksan dengan sempurna di bawah hampa udara pada suhu tidak lebih dari 40° atau dengan aliran gas nitrogen pada suhu kamar. Larutkan residu dalam lebih kurang 10 ml heksan P.

**Kromatografi kolom kedua** Tambahkan Larutan Heksana pelarut yang diperoleh dari Kromatografi kolom pertama pada Kolom kedua. Bilas labu penguapan dengan total 10 ml heksan P sedikit demi sedikit, dan masukkan setiap bilasan ke dalam kolom kedua, biarkan mengalir melalui kolom dan buang eluat yang keluar. Jika heksan di atas permukaan kolom tersisa lebih kurang 1 ml, tambahkan 75 ml toluen P dan eluasi dengan bantuan pompa pengisap (lebih kurang 125 mm raksa) dan tampung eluat. Uapkan toluen di bawah hampa udara pada suhu tidak lebih dari 40° atau dengan aliran gas nitrogen P pada suhu kamar.

**Larutan uji** Larutkan residu yang diperoleh dari Kromatografi kolom kedua dalam sedikit etilen diklorida P, pindahkan ke dalam labu tentukur 10-ml, encerkan dengan etilen diklorida P sampai tanda, campur untuk mendapatkan Larutan uji.

**Pengembangan warna** Pipet 1 ml Larutan uji ke dalam masing-masing 3 tabung kolorimeter yang sesuai,

berdiameter dalam lebih kurang 20 mm dan diberi tanda 1, 2, 3. Ke dalam tabung 1, pipet 1 ml Larutan baku, ke dalam tabung 2, pipet 1 ml etilen diklorida P, ke dalam tabung 3, pipet 1 ml campuran volume sama anhidrida asetat P dan etilen diklorida P. Pada setiap tabung segera tambahkan 5,0 ml Pereaksi warna, sebaiknya menggunakan pipet otomatis, campur. Setelah 45 detik, yang diukur saksama, penambahan Pereaksi warna, ukur serapan ketiga larutan pada 500 nm dengan spektrofotometer yang sesuai, menggunakan etilen diklorida P sebagai blangko. Dengan cara yang sama, 45 detik setelah pembacaan pertama setiap larutan, ukur serapan larutan dalam tabung 2 dan 3 pada panjang gelombang 550 nm. Beri tanda serapan berturut-turut sebagai  $A^1_{500}$ ,  $A^2_{500}$ ,  $A^3_{500}$ ,  $A^2_{550}$ , dan  $A^3_{550}$ , superskrip menunjukkan nomor tabung dan subskrip menunjukkan panjang gelombang.

**Perhitungan** Hitung jumlah µg vitamin D dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{C_s}{C}\right)\left(\frac{A_U}{A_S}\right)$$

$C_s$  adalah kadar vitamin D, dalam µg per ml Larutan baku;  $C$  adalah kadar contoh (dalam g, kapsul, tablet, dan lain-lain), dalam tiap ml larutan akhir;  $A_U$  mempunyai nilai  $(A^2_{500} - A^3_{500}) - 0,67(A^2_{550} - A^3_{550})$  ditetapkan dari serapan yang diamati pada larutan dari Larutan uji, dan  $A_S$  mempunyai nilai  $A^1_{500} - A^2_{500}$  ditetapkan pada larutan dari Larutan baku.

#### METODE BIOLOGI

Penetapan vitamin D secara biologi terdiri dari pencatatan dan interpretasi hasil pengamatan pada sekelompok tikus yang dipelihara dengan makanan khusus selama suatu periode tertentu, dimana respons biologi terhadap sediaan, dibandingkan dengan respons terhadap kapsul vitamin D BPFI.

#### Baku pembanding Kolekalsiferol BPFI.

**Periode pendahuluan** Selama periode pendahuluan pada kehidupan seekor tikus, yang tidak lebih dari 30 hari, dari waktu kelahiran sampai pada hari pertama periode pemberian makanan, kandang tikus diawasi langsung, atau sesuai dengan petunjuk penanggung jawab percobaan. Selama periode pendahuluan, gunakan makanan yang memberikan perkembangan normal tetapi kandungan vitamin D terbatas hingga jika diberikan Makanan rakhitogenik pada periode perlakuan makanan, tikus akan menderita rakhitis. Pada akhir periode pendahuluan, sisihkan setiap tikus yang berbobot kurang dari 44 g atau lebih dari 60 g, atau yang menunjukkan gejala-gejala yang merugikan, penyakit atau abnormalitas anatomi.

**Periode perlakuan makanan** Selama periode perlakuan makanan yang berlangsung dari akhir periode pendahuluan sampai hari pertama periode uji, beri setiap tikus dengan *Makanan rakhitogenik* dan air secukupnya, dan jangan diberi makanan atau tambahan makanan lain.

**Makanan rakhitogenik** *Makanan rakhitogenik* terdiri dari campuran yang sama dari kandungan berikut dengan perbandingan yang ditunjukkan pada tabel berikut.

<b>Makanan rakhitogenik</b>	
Kandungan	Bagian dalam bobot
Biji jagung kuning, digiling	76
Gluten (zat perekat) gandum, digiling.	20
Kalsium karbonat	3
Natrium klorida	1

Jika suatu analisis secara kimia dari keseluruhan makanan menunjukkan perbandingan Ca : P kurang dari 4:1 atau lebih dari 5:1, maka jumlah kalsium karbonat dapat diubah-ubah untuk membuat perbandingan yang sesuai pada tingkat yang sama dalam rentang ini.

Pengelompokan tikus untuk periode penetapan uji kandang dianggap sesuai untuk periode uji, jika masing-masing tikus dalam kandang menunjukkan gejala rakhitis seperti sendi-sendi yang membesar, terhuyung-huyung dengan aneh, langkah cepat rakhitis, dengan catatan periode perlakuan makanan tidak kurang dari 19 hari dan tidak lebih dari 25 hari. Timbulnya rakhitis dapat juga dilihat dari ketebalan metafisis rakhitis jika diperiksa dengan sinar-X atau dengan menggunakan *Uji garis* (akan dijelaskan di bawah) pada tulang kaki salah seekor tikus dalam masing-masing kandang.

Catat bobot masing-masing tikus, bagi dalam suatu kelompok dimana setiap tikus diberi makan dosis tertentu *Baku pembeding* atau contoh yang akan diuji potensi vitamin D nya. Untuk masing-masing contoh uji sediakan satu atau lebih kelompok uji dan tidak kurang dari 2 kelompok baku. Kedua kelompok baku dapat digunakan untuk uji bersama lebih dari satu contoh uji. Dalam interval tidak lebih dari 30 hari, sempurnakan pengelompokkan tikus sesuai dengan desain yang membagi kandang diantara kelompok untuk mencapai keseimbangan yang sempurna.

Untuk keseimbangan yang sempurna, setiap kandang terwakili sama dalam setiap kelompok, gunakan tujuh atau lebih kandang yang berisi tikus yang telah diberi makanan, yang jumlahnya paling sedikit adalah sama banyak dengan kelompok yang ada. Dari suatu kandang tertentu, pilih seekor tikus secara acak pada setiap kelompok di hari yang sama. Jika suatu kandang berisi tikus sebanyak dua kali kelompok yang ada, pilih seri tikus kedua dengan cara yang sama. Satu atau dua kandang terakhir yang dipilih dapat dibagi menjadi kelompok sedemikian sehingga pada awal periode uji bobot badan rata-rata setiap kelompok yang telah sempurna, tidak akan berbeda lebih dari 8 g dari bobot badan rata-rata setiap kelompok lain.

**Dosis uji** Pilih dua tingkat dosis *Kolekalsiferol BPFI*, yang berbeda sedemikian rupa hingga perbandingan dosis yang lebih besar terhadap dosis yang lebih kecil tidak kurang dari 1,5 atau tidak lebih dari 2,5. Pilih satu atau dua tingkat dosis yang didasarkan pada potensi yang diduga tunggal untuk masing-masing zat uji. Tingkat dosis zat uji adalah setara dengan dosis baku atau dosis tengah yang sama dengan akar pangkat dua dari hasil dua tingkat dosis baku.

Pilih tingkat dosis sedemikian hingga jika diberikan pada tikus rakhitis, tikus ini diharapkan menghasilkan derajat kalsifikasi dalam rentang seperti dinyatakan pada uji dari data keberterimaan. Sebelum diberikan, *Baku pembeding*, dan atau zat uji dapat diencerkan dengan minyak biji kapas dengan syarat tidak lebih dari 0,2 ml yang diberikan pada setiap hari. Simpan larutan minyak dalam botol tertutup baik, terlindung cahaya, pada suhu tidak lebih dari 10°, dan gunakan dalam waktu 5 minggu.

Tetapkan satu kelompok tikus untuk setiap tingkat dosis baku dan dosis satu atau lebih zat uji.

**Periode uji** Selama periode uji, yang berlangsung dari akhir periode perlakuan makanan selama interval tetap 7 - 10 hari, kurung masing-masing tikus sendiri-sendiri dan berikan *Makanan rakhitogenik* dan air secukupnya. Berikan *Makanan rakhitogenik* yang dibuat dari zat yang sama kepada semua tikus. Pada hari pertama dan hari ketiga (atau keempat) periode uji, beri setiap tikus setengah dosis total yang ditetapkan.

Sepanjang periode uji, kondisi lingkungan dipertahankan seseragam mungkin untuk semua tikus dan hindari paparan terhadap radiasi antirakhitik. Pada akhir periode tetap dari 7 - 10 hari, timbang dan bunuh tikus. Dari tikus-tikus tersebut yang pada akhir periode berbobot tidak kurang dari bobot awal periode uji dan yang sudah menerima dosis yang ditetapkan dalam 24 jam waktu pemberian makan, bedah satu atau lebih tulang kaki untuk pemeriksaan *Uji garis*.

**Uji garis** Ambil ujung proksimal tibia atau ujung distal radius, dan bersihkan dari jaringan yang melekat, dalam setiap satu percobaan menggunakan tulang yang sama dari semua hewan. Dengan pisau bersih tajam, buat potongan longitudinal, median melalui penghubung epifisis dan diafisis pada tempat sama pada setiap tulang. Bilas kedua bagian dalam air murni, celupkan segera dalam larutan *perak nitrat P* (1 dalam 50) selama 1 menit, dan bilas lagi dalam air murni. Paparkan permukaan potongan tulang dalam air terhadap cahaya matahari atau sumber cahaya aktinik lain hingga daerah yang terkalsifikasi membentuk noda yang jelas tanpa tanda perubahan warna pada daerah yang tidak terkalsifikasi. Prosedur pewarnaan dapat dimodifikasi untuk lebih membedakan antara daerah terkalsifikasi dan daerah tak terkalsifikasi.

Angka derajat kalsifikasi metafisis rakhitis pada setiap tikus, sesuai dengan skala yang memberikan respons rata-rata dan dapat digambarkan sebagai garis lurus terhadap logaritma dosis.

**Keberterimaan** Pengamatan dapat diterima untuk digunakan dalam perhitungan potensi hanya dari kelompok yang menunjukkan kalsifikasi dua pertiganya atau lebih, tetapi tidak kurang dari 7 ekor tikus, paling tidak sama besar seperti tingkat paling bawah dan tidak lebih besar dari tingkat tertinggi. Jika angka rata-rata tingkat dosis tinggi pada kelompok baku tidak lebih besar dari angka rata-rata tingkat dosis rendah pada kelompok baku, maka hasil tidak dapat dipakai dan ulangi pengujian. Jika suatu contoh uji diwakili oleh kelompok uji yang pengukuran potensi vitamin D nya tidak dapat diterima dan angka rata-rata dalam setiap kelompok adalah kurang dari angka rata-rata tingkat dosis rendah pada kelompok baku atau lebih besar dari angka rata-rata tingkat dosis tinggi pada kelompok baku, maka kandungan vitamin D yang ditetapkan masing-masing adalah kurang dari yang ditunjukkan oleh dosis rendah atau lebih besar dari yang ditunjukkan oleh dosis tinggi *Baku pembeding*.

**Perhitungan** Buat tabel, tabulasikan angka ( $y$ ), tuliskan setiap kandang dalam suatu baris yang terpisah dan setiap kelompok perlakuan dalam kolom. Hilangkan setiap kelompok yang tidak memenuhi *Uji Akseptabilitas*. Samakan jumlah pengamatan dalam kelompok yang diterima dengan mengabaikan hasil yang tak sama dalam kelompok pada semua kandang atau dengan cara lain yang sesuai seperti tertera pada *Desain dan Analisis Penetapan Hayati* <81>. Jumlahkan nilai  $f$  untuk masing-masing kelompok perlakuan, dimana  $f$  adalah jumlah kandang, dan tandai setiap jumlah sebagai sebagai  $T$  dengan subskrip masing-masing 1 dan 2 untuk tingkat dosis rendah dan tinggi. Hitung kemiringan  $b$  dari jumlah  $T_1$ , yaitu  $\sum T_1$  dan jumlah  $T_2$ , yaitu  $\sum T_2$ , untuk baku dan zat uji, yang ditunjukkan pada kedua tingkat dosis, dengan persamaan:

$$b = \frac{(\sum T_2 - \sum T_1)}{ifh'}$$

$i$  adalah logaritma dari perbandingan dosis tinggi terhadap dosis rendah dan nilainya sama untuk setiap sediaan, dan  $h'$  adalah jumlah sediaan yang ditunjukkan oleh dua tingkat dosis dan termasuk dalam perhitungan nilai  $b$ .

Hitung logaritma dari potensi relatif setiap zat dengan persamaan:

$$\begin{aligned} \text{Log (potensi relatif)} &= M' \\ &= \frac{y_u - y_s}{b} \\ &= \frac{ih' T_a}{2 \sum T_b} \end{aligned}$$

$\bar{y}_u$  adalah setiap angka rata-rata zat uji,  $y_s$  adalah setiap angka rata-rata Baku pembeding, yang merupakan rata-rata dari masing-masing angka untuk tingkat dosis

menengah atau rata-rata dari tingkat dosis tinggi dan rendah dan dimana  $T_b = \sum T_2 - \sum T_1$  dan  $T_a$  adalah seperti yang telah ditetapkan pada *Desain dan Analisis Penetapan Hayati* <81>. Konversikan setiap  $M'$  yang diamati menjadi antilogaritmanya untuk memperoleh potensi relatif zat. Kalikan potensi relatif dengan potensi yang diduga dari minyak uji (dalam satuan unit per g), yang diadopsi dari awal pengujian, untuk memperoleh kandungan vitamin D dalam satuan unit FI per g.

**PENETAPAN KADAR KOBALAMIN SECARA PERUNUT RADIOAKTIF <571>**

Semua penetapan radioaktif yang menggunakan metode ini harus dilakukan dengan alat pencacah yang sesuai, dan dalam jangka waktu optimal untuk alat pencacah tersebut. Semua prosedur harus dilakukan pengulangan untuk mendapatkan ketepatan yang tinggi.

**Baku pembeding** *Sianokobalamin BPFI*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan.

**Pereaksi perunut sianokobalamin** Ukur saksama sejumlah volume larutan sianokobalamin radioaktif, encerkan dengan air hingga larutan mempunyai radioaktivitas antara 500 dan 5000 cacahan per menit per ml larutan, tambahkan 1 tetes *kresol P* per liter larutan dan simpan dalam lemari pendingin.

**Pembakuan** Timbang saksama sejumlah *Sianokobalamin BPFI*, dan larutkan dalam air hingga kadar 20 - 50  $\mu\text{g}$  per ml. Lakukan seluruh prosedur penetapan pada 10,0 ml larutan seperti tertera pada *Larutan uji*, mulai dari "Tambahkan air hingga volume".

**Larutan kresol-karbon tetraklorida** Buat campuran dalam volume yang sama *karbon tetraklorida P* dengan *kresol P* yang baru didestilasi.

**Larutan fosfat-sianida** Larutkan 100 mg *kalium sianida P* dalam 1000 ml larutan jenuh *natrium fosfat dibasa P*.

**Larutan butanol-benzalkonium klorida** Encerkan larutan *benzalkonium klorida P* (17 dalam 100) dengan air (3:1), campur dengan 36 volume *butanol P*.

**Kolom alumina-resin** Masukkan segumpal wol kaca ke dalam dasar kolom 50 ml, masukkan sejumlah bubuk *resin penukar ion P* dalam air ke dalam kolom hingga setinggi 7 cm. Bila resin sudah mengendap, biarkan air menetes hingga tinggi air di atas kolom resin tinggal 1 cm; padatkan perlahan kolom resin. Tambahkan sejumlah volume bubuk *alumina anhidrat P* (tanpa pencucian asam) dalam air secukupnya sampai tinggi kolom menjadi 10 cm, keluarkan air hingga tinggal 1 cm di atas kolom alumina. Tutup dengan wol kaca, cuci kembali

kolom dengan 50 ml air, dan buang air hingga tinggi air di atas kolom tinggal 1 cm. Buat kolom baru untuk setiap penetapan.

**Larutan uji** Timbang atau ukur saksama sejumlah zat dengan aktivitas vitamin B<sub>12</sub>, setara dengan 200 - 500 µg sianokobalamin, masukkan ke dalam gelas piala. Tambahkan air hingga volume tidak kurang dari 25 ml, tambahkan 5 ml *Pereaksi perunut sianokobalamin*. Tambahkan 5 mg *natrium nitrit P* dan 2 mg *kaliun sianida P* pada tiap ml larutan yang dihasilkan. Lakukan penambahan dalam lemari asam. Atur pH hingga 4 dengan penambahan *asam klorida encer P*, panaskan di atas tangas uap selama 15 menit. Dinginkan dan atur pH hingga 7,6 - 8,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 1 N*. Sentrifus atau saring untuk membuang bagian padat yang tidak larut.

**Prosedur** Masukkan *Larutan uji* ke dalam tabung sentrifuga 250 ml, tambahkan 10 ml *Larutan kresol karbon tetraklorida*, tutup tabung dengan tutup kaca, polietilen atau karet yang dibungkus kertas logam, kocok kuat-kuat selama 2 - 5 menit, dan sentrifus, ambil larutan bagian bawah. Ulangi ekstraksi menggunakan 5 ml *Larutan kresol-karbon tetraklorida*, dan gabungkan ekstrak larutan bagian bawah ke dalam tabung sentrifus atau corong pisah kapasitas 50 - 100 ml.

Cuci gabungan ekstrak beberapa kali, tiap kali dengan 1 ml *asam sulfat 5 N* sampai cucian terakhir praktis tidak berwarna, (biasanya cukup dua kali). Selama tiap pencucian kocok 2 - 5 menit, diamkan sampai terpisah, bila perlu sentrifus, dan buang lapisan asam. Cuci kembali dua kali, tiap kali dengan 10 ml *Larutan fosfat sianida*. Terakhir cuci dengan 10 ml air. Buang semua cairan pencuci.

Pada ekstrak yang sudah dicuci, tambahkan 30 ml campuran *Larutan butanol-benzalkonium klorida* dan *karbon tetraklorida P* (2:1). Ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 5 ml air, tiap kali kocok kuat selama 1 menit, sentrifus, ambil dan simpan lapisan air. Lewatkan campuran ekstrak air melalui *kolom alumina-resin*, dengan kecepatan lebih kurang 1 ml per menit, dengan menjaga tinggi lapisan cairan 1 cm di atas kolom dengan menambahkan air secukupnya. Buang eluat awal yang tidak berwarna (biasanya lebih kurang 5 ml), dan kumpulkan eluat berwarna (biasanya lebih kurang 10 ml) ke dalam tabung sentrifus atau corong pisah 50 ml yang berisi 500 µl *asam asetat encer P*. Ekstraksi eluat dengan cara mengocok selama 2 - 5 menit dengan 5 ml *Larutan kresol karbon tetraklorida*, kemudian buang lapisan air yang diatas. Ke dalam ekstrak tambahkan 5,0 ml air, 5 ml *karbon tetraklorida P* dan 10 ml *butanol P*. Kocok, diamkan sampai lapisan atas jernih dan pindahkan lapisan air yang di atas. Ukur serapan ekstrak air pada 361 nm dan 550 nm dengan spektrofotometer. Pada pembacaan 361 nm gunakan filter untuk mengurangi sinar bias. Hitung perbandingan  $A_{361}/A_{550}$ ; kemurnian ekstrak air memenuhi syarat bila perbandingan antara 3,10 dan 3,40. Bila perbandingan di luar nilai tersebut ulangi pemurnian ekstrak air dengan mengulangi siklus ekstraksi dan lanjutkan pengujian sebagai berikut.

Bila perbandingan serapan dalam ekstrak air memenuhi syarat, tetapkan radioaktivitas dalam cacahan per menit, menggunakan alat pencacah yang sesuai dalam waktu optimal untuk alat pencacah tersebut. Hitung hasil rata-rata, dan koreksi terhadap latar belakang radioaktivitas yang ditetapkan dua kali atau lebih selama waktu 30 menit.

**Perhitungan** Hitung kandungan kobalamin yang dinyatakan dalam µg sianokobalamin dengan rumus:

$$R \left( \frac{C_s}{C_u} \right) \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

*R* adalah jumlah µg sianokobalamin dalam *Larutan baku* yang digunakan; *C<sub>s</sub>* dan *C<sub>u</sub>* berturut-turut adalah nilai radioaktivitas rata-rata yang telah dikoreksi, dinyatakan dalam cacahan per menit per ml dari *Larutan baku* dan *Larutan uji*; *A<sub>u</sub>* dan *A<sub>s</sub>* berturut-turut adalah serapan pada 361 nm dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

## PENETAPAN KADAR NITROGEN <581>

Beberapa alkaloid dan senyawa organik lain yang mengandung nitrogen tidak dapat melepaskan seluruh nitrogen setelah ekstraksi dengan *asam sulfat P*; karena itu metode ini tidak dapat digunakan untuk penetapan nitrogen dalam semua senyawa organik.

### Metode I

**Tanpa Nitrat dan Nitrit** Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu Kjeldahl 500 ml dari kaca borosilikat keras. Jika zat padat atau setengah padat, dapat dibungkus dengan sehelai kertas saring bebas nitrogen untuk memudahkan pemindahan ke dalam labu. Tambahkan 10 g serbuk *kaliun sulfat P* atau *natrium sulfat anhidrat P*, 500 mg serbuk *tembaga(II) sulfat P* dan 20 ml *asam sulfat P*. Miringkan labu pada posisi dengan sudut lebih kurang 45°, panaskan campuran dengan hati-hati, jaga suhu di bawah titik didih sampai tidak berbuih lagi. Tingkatkan pemanasan sampai asam mendidih secara cepat dan teruskan pemanasan sampai larutan berwarna hijau jernih atau hampir tak berwarna selama 30 menit. Biarkan hingga dingin, tambahkan 150 ml air, campur dan dinginkan lagi. Tambahkan hati-hati 100 ml larutan *natrium hidroksida P* (2 dalam 5) melalui dinding sebelah dalam labu hingga terbentuk lapisan di bawah larutan asam. Segera tambahkan beberapa butir *zink P* dan segera hubungkan labu ke bola (perangkap) penghubung Kjeldahl, yang sebelumnya telah dihubungkan dengan kondensor, yang pipa penyalurnya tercelup di bawah permukaan larutan 100 ml larutan *asam borat P* (1 dalam 25) dalam labu Erlenmeyer 500 ml. Campur isi labu Kjeldahl dengan memutar hati-hati dan destilasi sampai lebih kurang empat perlima isi labu terdestilasi. Titrasi dengan *asam sulfat 0,5 N LV*.

Tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

*1 ml asam sulfat 0,5 N  
setara dengan 7,003 mg nitrogen*

Jika kandungan nitrogen dalam zat rendah, *asam sulfat 0,5 N LV* dapat diganti dengan *asam sulfat 0,1 N LV*.

*1 ml asam sulfat 0,1 N  
setara dengan 1,401 mg nitrogen*

**Jika Ada Nitrat dan Nitrit** Timbang saksama sejumlah zat setara dengan lebih kurang 150 mg nitrogen, masukkan ke dalam labu Kjeldahl 500 ml dari kaca borosilikat keras, tambahkan larutan 1 g *asam salisilat P* dalam 25 ml *asam sulfat P*. Campur isi labu, biarkan selama 30 menit dan sering dikocok. Tambahkan 5 g serbuk *natrium tiosulfat P*, campur, tambahkan 500 mg serbuk *tembaga(II) sulfat P*, lakukan seperti tertera pada *Tanpa nitrat dan nitrit*, mulai dengan "Miringkan labu pada posisi dengan sudut lebih kurang 45°".

Jika kandungan nitrogen dalam zat lebih dari 10%, tambahkan 500 mg hingga 1 g *asam benzoat P* sebelum ekstraksi untuk memudahkan peruraian senyawa.

#### Metode II

**Peralatan** Pilih satu unit tipe umum alat Kjeldahl semi mikro, mula-mula nitrogen dibebaskan dengan ekstraksi asam dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam wadah titrasi dengan destilasi uap.

**Prosedur** Timbang saksama atau ukur secara kuantitatif sejumlah zat setara dengan 2 - 3 mg nitrogen, masukkan ke dalam labu ekstraksi. Tambahkan 1 g campuran serbuk *kalium sulfat P* dan *tembaga(II) sulfat P* (10:1) dan cuci serbuk yang menempel pada leher labu dengan semprotan air. Tambahkan 7 ml *asam sulfat P* melalui dinding untuk membilas, kemudian sambil memutar labu, tambahkan 1 ml *hidrogen peroksida P*, 30% dengan hati-hati melalui dinding labu (jangan menambahkan hidrogen peroksida selama ekstraksi).

Panaskan labu di atas api langsung atau pemanas elektrik sampai larutan berwarna biru jernih dan dinding labu bebas dari zat yang mengarang. Tambahkan hati-hati 70 ml air pada campuran ekstrak, dinginkan, lakukan destilasi uap. Tambahkan 30 ml larutan *natrium hidroksida P* (2 dalam 5) dengan corong sedemikian rupa sehingga larutan mengalir melalui dinding sebelah dalam labu hingga terbentuk lapisan di bawah larutan asam, bilas corong dengan 10 ml air, tutup rapat, segera lakukan destilasi uap. Tampung destilat dalam 15 ml larutan *asam borat P* (1 dalam 25) yang telah ditambah dengan 3 tetes *merah metil-biru metilen LP* dan air secukupnya untuk menutup ujung pipa kondensor. Lanjutkan destilasi hingga destilat mencapai 80 - 100 ml. Pindahkan labu serap, bilas ujung pipa pendingin dengan sedikit air dan titrasi destilat dengan *asam sulfat 0,01 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*1 ml asam sulfat 0,01 N  
setara dengan 140,1 µg nitrogen.*

Jika zat mengandung nitrogen lebih dari 2 - 3 mg, dapat digunakan *asam sulfat 0,02 N* atau *asam sulfat 0,01 N* dan dibutuhkan tidak kurang dari 15 ml. Jika jumlah bobot bahan kering lebih besar dari 100 mg, jumlah *asam sulfat P* dan *natrium hidroksida P* yang digunakan dinaikkan hingga sebanding dengan bobot bahan.

## PENETAPAN KADAR NITROGEN DALAM PRODUK DARAH <591>

### Metode I

Masukkan sejumlah zat yang mengandung lebih kurang 2 mg nitrogen, ke dalam labu leher panjang 200 ml, tambahkan 3 butir manik kaca dan 4 g campuran serbuk terdiri dari *kalium sulfat P*, *tembaga(II) sulfat P*, dan *selenium P* (100:5:2,5). Tambahkan 5 ml asam sulfat bebas *nitrogen P*, campur, dan longgarkan penutup labu. Panaskan perlahan hingga mendidih dan jika tidak dinyatakan lain, didihkan selama 30 menit, dan hindarkan panas berlebih pada bagian labu di atas permukaan cairan. Dinginkan, larutkan sisa dengan penambahan 25 ml air secara hati-hati, dinginkan lagi dan hubungkan labu dengan alat destilasi uap. Tambahkan 30 ml *natrium hidroksida 10 N* dan destilasi segera. Tampung lebih kurang 40 ml destilat dalam campuran 20 ml *asam klorida 0,01 N LV* dan air secukupnya hingga ujung kondensor tercelup. Hindarkan air masuk dari permukaan luar kondensor ke dalam penampung. Titrasi kelebihan asam dengan *natrium hidroksida 0,01 N LV* menggunakan *merah metil biru metilen LP* sebagai indikator. Ulangi penetapan menggunakan 50 mg D-glukosa sebagai pengganti zat uji. Perbedaan hasil kedua titrasi menunjukkan amonia yang dibebaskan oleh zat uji.

*Tiap ml asam klorida 0,01 N  
setara dengan 0,1401 mg N*

### Metode II

#### (Penetapan Protein dalam Produk Darah)

Untuk produk darah kering, rekonstitusi seperti tertera pada monografi.

Pada sejumlah volume yang diperkirakan mengandung lebih kurang 100 mg protein, tambahkan larutan *natrium klorida P* 0,9% secukupnya hingga 20 ml. Masukkan 2 ml larutan ini ke dalam labu didih 75 ml, tambahkan 2 ml asam sulfat 75% bebas nitrogen, *kalium sulfat P* 4,5% dan *tembaga(II) sulfat P* 0,5%, campur dan longgarkan tutup. Panaskan perlahan, didihkan kuat selama 1,5 jam dan dinginkan. Jika larutan tidak jernih, tambahkan 0,25 ml larutan *hidrogen peroksida P* 6%, lanjutkan pemanasan, hingga larutan jernih dan dinginkan. Selama pemanasan, hindarkan panas berlebih pada bagian atas tabung.

Pindahkan larutan ke dalam alat destilasi bilas tiga kali, tiap kali dengan 3 ml air, tambahkan 10 ml *natrium hidroksida 10 N*, dan lakukan destilasi secara cepat selama 4 menit, tampung destilat dalam campuran 5 ml larutan jenuh *asam borat P* dan 5 ml air dan jaga ujung kondensor tercelup, Turunkan labu penampung sehingga destilat dalam kondensor dapat mengalir bebas dan lanjutkan destilasi selama 1 menit. Titrasi dengan *asam klorida 0,02 N LV* menggunakan indikator merah metil-biru metilen LP ( $V_1$  ml).

Pada sejumlah volume sediaan uji atau larutannya yang diperkirakan mengandung 100 mg protein, tambahkan 12 ml larutan *natrium klorida P 0,9%*, 2 ml larutan *natrium molibdat P 7,5%* dan 2 ml campuran *asam sulfat bebas nitrogen P-air (1:30)*. Kocok dan biarkan selama 15 menit, tambahkan air secukupnya hingga 20 ml, kocok lagi dan sentrifus. Ulangi prosedur di atas menggunakan 2 ml larutan beningan mulai dari "Ke dalam labu didih 75 ml" ( $V_2$  ml). Hitung kandungan protein dalam mg per ml menggunakan rumus:

$$6,25 \times 0,280 (V_1 - V_2)$$

dan dengan memperhitungkan faktor pengenceran.

#### PENETAPAN KADAR RIBOFLAVIN <601>

Prosedur berikut digunakan untuk penetapan riboflavin dalam sediaan campuran. Selama penetapan, pH larutan dipertahankan di bawah 7 dan terlindung cahaya langsung.

##### Baku pembanding *Riboflavin BPF1*.

**Larutan baku persediaan** Timbang saksama lebih kurang 50 mg *Riboflavin BPF1* yang telah dikeringkan dan disimpan terlindung cahaya dalam desikator di atas fosfor pentoksida P, tambahkan lebih kurang 300 ml *asam asetat 0,02 N*, panaskan campuran di atas tangas uap sambil sering dikocok, hingga riboflavin larut. Dinginkan, tambahkan *asam asetat 0,02 N* hingga 500 ml. Simpan di bawah toluen dalam lemari pendingin.

**Larutan baku** Pipet 10 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan air sampai tanda. Tiap ml mengandung 1,0 µg *Riboflavin BPF1*. *Larutan baku* harus dibuat segar.

**Larutan uji** Timbang saksama sejumlah zat, masukkan ke dalam labu yang sesuai, tambahkan sejumlah volume *asam klorida 0,1 N* yang tidak kurang dari 10 kali bobot kering zat dalam g, sehingga larutan yang diperoleh mengandung riboflavin tidak lebih dari 100 µg per ml. Bila zat tidak mudah larut, usahakan hingga terdispersi merata dalam cairan. Kocok kuat dan bilas tepi labu dengan *asam klorida 0,1 N*.

Panaskan campuran dalam otoklaf pada 121° - 123° selama 30 menit, dinginkan. Bila terbentuk gumpalan, kocok campuran hingga partikel-partikel terdispersi merata. Sambil dikocok kuat, atur pH campuran 6,0 - 6,5 dengan larutan *natrium hidroksida* yang sesuai, kemudian tambahkan segera larutan *asam klorida* yang sesuai

hingga tidak terbentuk endapan lagi (umumnya pada pH lebih kurang 4,5, yang merupakan titik isoelektrik sebagian besar protein). Encerkan campuran dengan air sampai volume tertentu hingga kadar riboflavin lebih kurang 0,11 µg per ml, saring melalui kertas saring yang tidak menyerap riboflavin. Pada sejumlah filtrat, tambahkan larutan *natrium hidroksida* sambil terus dikocok kuat hingga pH 6,6 - 6,8, encerkan larutan dengan air sampai volume akhir tertentu hingga kadar riboflavin 0,1 µg per ml, saring lagi bila terjadi kekeruhan.

**Prosedur** Pada masing-masing empat atau lebih tabung reaksi, tambahkan 10,0 ml *Larutan uji*. Pada masing-masing dua atau lebih tabung ini, tambahkan 1,0 ml *Larutan baku*, dan pada masing-masing dua atau lebih tabung yang tersisa, tambahkan 1,0 ml air. Pada tiap tabung tambahkan 1,0 ml *asam asetat glasial*, campur, dan tambahkan sambil dikocok 0,5 ml larutan *kalium permanganat* (1 dalam 25), biarkan selama 2 menit. Pada tiap tabung, tambahkan sambil dikocok 0,5 ml larutan hidrogen peroksida hingga warna permanganat hilang dalam 10 detik. Kocok tabung dengan kuat sampai kelebihan oksigen hilang. Hilangkan sisa gelembung gas pada dinding tabung setelah busa tidak timbul lagi dengan memiringkan tabung hingga larutan mengalir perlahan dari ujung ke ujung tabung. Pada fluorometer yang sesuai, yang mempunyai suatu filter input dari rentang transmitan lebar dengan maksimum lebih kurang 440 nm dan suatu filter output dari rentang transmitan lebar dengan maksimum lebih kurang 530 nm, ukur fluoresensi semua tabung,  $I_U$  adalah fluoresensi rata-rata dari tabung *Larutan uji* dan  $I_S$  adalah fluoresensi rata-rata dari tabung yang berisi campuran *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Kemudian pada tiap satu atau lebih tabung dari tiap jenis, tambahkan sambil dikocok 20 mg natrium hidrosulfid P, dan dalam waktu 5 detik ukur fluoresensi, fluoresensi rata-rata dinyatakan sebagai  $I_B$ .

**Perhitungan** Hitung jumlah  $C_{17}H_{20}N_4O_6$ , dalam mg per ml, *Larutan uji* dengan rumus:

$$\frac{0,001 (I_U - I_B)}{(I_S - I_U)}$$

Hitung jumlah  $C_{17}H_{20}N_4O_6$ , dalam mg per kapsul atau tablet.

#### PENETAPAN KADAR ZINK <611>

Penetapan kuantitatif zink di dalam sediaan insulin diperlukan karena zink merupakan unsur komponen esensial dari kristal zink-insulin. Seperti pada timbal, zink dapat ditetapkan dengan metoda ditizon atau spektrum serapan atom.

##### Metode Ditizon

Gunakan semua pereaksi dengan kandungan logam berat serendah mungkin. Jika perlu, destilasi air dan

pelarut lain dalam alat kaca borosilikat. Bilas semua alat kaca dengan larutan asam nitrat P hangat (1 dalam 2), kemudian dengan air. Pada penggunaan corong pisah hindarkan pelumas yang larut dalam kloroform.

**Larutan dan pelarut khusus**

*Larutan amonium sitrat alkalis* Larutkan 50 g amonium sitrat dibasa P dalam air hingga 100 ml. Tambahkan 100 ml amonium hidroksida P. Hilangkan logam berat dengan mengekstraksi larutan beberapa kali, tiap kali menggunakan 20 ml Larutan pengekstraksi ditizon seperti tertera pada Uji Batas Timbal <401> hingga larutan ditizon tetap berwarna hijau jernih, kemudian ekstraksi sisa ditizon dalam larutan sitrat dengan kloroform P.

*Kloroform Destilasi kloroform P* dalam alat kaca borosilikat, tampung destilat dalam etanol mutlak P secukupnya hingga setiap 100 ml destilat mengandung 1 ml etanol.

*Larutan ditizon* Gunakan Larutan baku ditizon seperti tertera pada Uji Batas Timbal <401> menggunakan kloroform P.

*Larutan baku zink* Timbang saksama 625 mg zink oksida P yang telah dipijarkan hingga bobot tetap, larutkan dalam 10 ml asam nitrat P, dan tambahkan air hingga 500,0 ml. Larutan ini mengandung 1,0 mg zink per ml.

*Enceran larutan baku zink* Pipet 1 ml Larutan baku zink ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 2 tetes asam nitrat P encerkan dengan air sampai tanda. Larutan mengandung 10 µg zink per ml. Gunakan larutan ini tidak lebih dari 2 minggu.

*Larutan asam trikloroasetat* Larutkan 100 g asam trikloroasetat P dalam air hingga 1000 ml.

**Prosedur** Pipet 1 - 5 ml zat uji, masukkan ke dalam tabung sentrifuga 40 ml berskala. Jika perlu, tambahkan asam klorida 0,25 N tetes demi tetes hingga larutan jernih. Tambahkan 5 ml Larutan asam trikloroasetat dan air secukupnya hingga 40,0 ml. Campur dan sentrifus.

Ukur saksama sejumlah volume beningan yang mengandung 5 - 20 µg zink, masukkan ke dalam corong pisah. Tambahkan air hingga lebih kurang 20 ml, tambahkan 1,5 ml Larutan amonium sitrat alkalis dan 35 ml Larutan ditizon. Kocok kuat 100 kali, biarkan lapisan kloroform memisah. Masukkan kapas ke dalam tangkai corong pisah untuk menghilangkan emulsi air. Kumpulkan ekstrak kloroform (buang cairan pertama yang keluar) dalam tabung reaksi, dan ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 530 nm terhadap larutan blanko.

Hitung jumlah zink menggunakan kurva kalibrasi yang diperoleh dari 0,5 ml, 1 ml dan 1,5 ml Enceran larutan baku zink. Jika kandungan zink yang telah diekstraksi dari contoh telah melebihi 15 µg, perlakukan 2,0 ml enceran Larutan baku zink yang telah dikoreksi terhadap blanko yang diperlakukan sama, tetapi tanpa penambahan zink.

**PENETAPAN KADAR SINEOL <621>**

Timbang saksama sejumlah 3 g zat uji yang telah dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat P, masukkan ke dalam tabung reaksi kering, tambahkan 2,10 g ortokresol P yang telah dileburkan. Masukkan tabung reaksi ke dalam alat seperti tertera pada Penetapan Suhu Beku <1101>, biarkan dingin dan aduk terus menerus. Jika terjadi penghabluran, catat suhu tertinggi penghabluran ( $t_1$ ).

Lebur kembali hablur di atas tangas air hingga suhu tidak melebihi 5° di atas  $t_1$ ; masukkan tabung ke dalam alat Penetapan Suhu Beku <1101> yang diatur dengan suhu 5° di bawah  $t_1$ . Jika terjadi penghabluran kembali atau suhu turun 3° di bawah  $t_1$ , aduk terus menerus sampai campuran membeku, catat suhu pembekuan tertinggi ( $t_2$ ). Ulangi penetapan hingga dua suhu tertinggi yang diperoleh pada  $t_2$ , tidak berbeda lebih dari 0,2°. Jika terjadi pendinginan berlebihan, untuk mempercepat terbentuknya hablur, tambahkan sedikit hablur senyawa kompleks sineol orto-kresol yang diperoleh dari 3,0 g sineol P dan 2,10 g ortokresol P. Jika  $t_2$  di bawah 27,4° ulangi penetapan sesudah penambahan 5,10 g senyawa kompleks.

Tetapkan persentase (b/b) sineol sesuai suhu beku ( $t_2$ ) dari Tabel, yang diperoleh dari harga antara dengan cara interpolasi. Bila digunakan penambahan 5,10 g senyawa kompleks, hitung persentase (b/b) sineol dengan rumus 2 (A-50). A adalah harga yang sesuai dengan suhu beku  $t_2$  dari Tabel.

$t_2^\circ$	Sineol % b/b	$t_2^\circ$	Sineol % b/b
24	45,5	40	67,0
25	47,0	41	68,5
26	48,5	42	70,0
27	49,5	43	72,5
28	50,5	44	74,0
29	52,0	45	76,0
30	53,5	46	78,0
31	54,5	47	80,0
32	56,0	48	82,0
33	57,0	49	84,0
34	58,5	50	86,0
35	60,0	51	88,5
36	61,0	52	91,0
37	62,5	53	93,5
38	63,5	54	96,0
39	65,0	55	99,0

**PENETAPAN KADAR STEROID <631>**

Cara ini digunakan untuk penetapan kadar steroid yang mempunyai gugus fungsi mereduksi seperti  $\alpha$ -ketol.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah Baku Pembanding FI, seperti tertera pada monografi, yang sebelumnya telah dikeringkan menurut cara yang tertera pada monografi, larutkan dalam etanol P. Lakukan



pengenceran bertingkat dengan *etanol P* secukupnya hingga kadar lebih kurang 10 µg per ml. Pipet 20 ml larutan ini ke dalam labu Erlenmayer 50 ml bersumbat kaca.

**Larutan uji** Buat seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Prosedur** Ke dalam dua labu yang masing-masing berisi *Larutan uji* dan *Larutan baku* dan ke dalam labu ketiga yang berisi 20,0 ml *etanol P* sebagai blangko, tambahkan 2,0 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 50 mg *biru tetrazolium P* dalam 10 ml *metanol P*, dan campur. Kemudian ke dalam tiap labu tambahkan 2,0 ml campuran *etanol P-tetrametil amonium hidroksida LP* (9 : 1), campur, dan biarkan dalam gelap selama 90 menit. Ukur segera serapan larutan yang di peroleh dari *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada panjang gelombang lebih kurang 525 nm dibandingkan terhadap blangko. Hitung kadar steroid dengan rumus seperti tertera pada masing-masing monografi. *C* adalah kadar baku pembanding, dalam µg per ml *Larutan baku*; *A<sub>u</sub>* dan *A<sub>s</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

#### PENETAPAN KADAR STEROID TUNGGAL <641>

Dalam prosedur berikut, steroid yang akan ditetapkan kadarnya dipisahkan dari steroid asing sejenis dan eksipien dengan cara kromatografi lapis tipis dan ditetapkan perolehan kembali dari kromatogram.

**Penyiapan lempeng** Buat lumpuran dari 30 g silika gel dengan zat berfluoresensi yang sesuai, dengan menambahkan bertahap dan mencampur, lebih kurang 65 ml campuran air-*etanol P* (5:2). Pindahkan lumpuran ke atas lempeng bersih 20 cm x 20 cm, ratakan hingga diperoleh lapisan serba rata setebal 0,25 mm dan keringkan pada suhu kamar selama 15 menit. Panaskan lempeng pada suhu 105° selama 1 jam dan simpan dalam desikator.

**Fase gerak A** Campuran *diklorometana P-metanol P* (180:16).

**Fase gerak B** Campuran *kloroform P-aseton P* (4:1).

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah *Baku Pembanding FI* yang tertera pada masing-masing monografi, yang sebelumnya telah dikeringkan menurut cara yang tertera pada monografi, larutkan dalam campuran *kloroform P-etanol P* (1:1) hingga kadar lebih kurang 2 mg per ml.

**Larutan uji** Buat seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Prosedur** Bagi lempeng menjadi 3 bagian yang sama, bagian kiri dan kanan masing-masing untuk *Larutan uji* dan *Larutan baku* dan bagian tengah untuk blangko. Totolkan terpisah berupa garis masing-masing 200 µl *Larutan uji* dan *Larutan baku* dengan jarak 2,5 cm dari tepi bawah lempeng. Keringkan lempeng dengan aliran udara. Dengan menggunakan *Fase gerak* yang terdapat pada masing-masing monografi, eluasi lempeng dalam bejana kromatografi yang sesuai, yang sebelumnya telah

dijenuhkan, biarkan merambat hingga 15 cm dari garis penotolan. Angkat lempeng, biarkan menguap di udara, dan amati bercak utama berupa pita dari *Larutan baku* di bawah cahaya ultra violet. Tandai pita ini, dan pita yang sesuai dari *Larutan uji* dan blangko. Pindahkan silika gel dari tiap-tiap pita secara terpisah ke dalam tabung sentrifus 50 ml bersumbat kaca. Ke dalam tiap tabung tambahkan 25,0 ml *etanol P*, dan kocok selama tidak kurang dari 2 menit. Sentrifus selama 5 menit, pipet 20 ml beningan dari masing-masing tabung ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml bersumbat kaca, tambahkan 2,0 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 50 mg *biru tetrazolium P* dalam 10 ml *metanol P*, dan campur. Lakukan seperti tertera pada *Prosedur* pada *Penetapan Kadar Steroid <631>* mulai dari "Kemudian ke dalam tiap labu...".

#### PENETAPAN KADAR TIAMIN <651>

**Baku pembanding** *Tiamin Hidroklorida BPHI*; tidak boleh dikeringkan, tetapkan kadar air secara titrimetri pada waktu akan digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

Prosedur berikut ini digunakan untuk penetapan tiamin dalam sediaan multi komponen.

##### **Larutan dan pelarut khusus**

**Larutan kalium besi(III) sianida** Larutkan 1,0 g *kalium besi(III) sianida P* dalam air hingga 100 ml. Larutan dibuat segar.

**Pereaksi pengoksidasi** Pada 4,0 ml *Larutan kalium heksasianoferrat(III)* tambahkan *natrium hidroksida 3,5 N* hingga 100 ml. Gunakan larutan ini dalam 4 jam.

**Larutan persediaan kuinin sulfat** Larutkan 10 mg kuinin sulfat dalam *asam sulfat 0,1 N* hingga 1000 ml. Simpan larutan ini dalam lemari pendingin dan terlindung cahaya.

**Larutan baku kuinin sulfat** Encerkan *Larutan persediaan kuinin sulfat* dengan *asam sulfat 0,1 N* (1:39). Larutan ini mempunyai derajat fluoresensi yang hampir sama dengan tiokrom yang diperoleh dari 1 µg tiamin hidroklorida dan digunakan untuk koreksi fluorometer pada interval tertentu terhadap variasi kepekaan tiap pengukuran. Larutan dibuat segar.

**Larutan baku persediaan** Timbang saksama lebih kurang 25 mg *Tiamin Hidroklorida BPHI*, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, larutkan dalam lebih kurang 300 ml larutan *etanol P* (1 dalam 5) yang diatur pH 4,0 dengan penambahan *asam klorida 3 N* dan tambahkan pelarut yang sama sampai tanda. Simpan dalam wadah tidak tembus cahaya di dalam lemari pendingin. Gunakan larutan ini dalam waktu satu bulan.

**Larutan baku** Encerkan sejumlah *Larutan baku persediaan* secara kuantitatif dan bertahap dengan *asam klorida 0,2 N* hingga kadar tiamin hidroklorida lebih kurang 0,2 µg per ml.

**Larutan uji** Timbang atau ukur saksama sejumlah zat, masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai, encerkan dengan *asam klorida 0,2 N* hingga kadar tiamin hidroklorida (atau mononitrat) lebih kurang 100 µg per

ml. Jika sampel sukar larut, panaskan di atas tangas uap, kemudian dinginkan dan encerkan dengan *asam klorida* 0,2 N sampai tanda. Encerkan 5 ml larutan ini secara kuantitatif dan jika perlu bertahap, dengan *asam klorida* 0,2 N hingga kadar tiamin hidroklorida (mononitrat) lebih kurang 0,2 µg per ml.

**Prosedur** Pipet 5 ml *Larutan baku* ke dalam tiap tabung dari tiga atau lebih tabung (atau wadah lain yang sesuai) berkapasitas lebih kurang 40 ml. Ke dalam dua tabung tersebut, masing-masing tambahkan secara cepat (dalam 1 - 2 detik) 3,0 ml *Pereaksi pengoksidasi* sambil dicampur, dan dalam 30 detik tambahkan 20,0 ml *isobutil alkohol P*, tutup tabung kocok kuat-kuat selama 90 detik dengan tangan atau dengan mengalirkan gelembung udara ke dalam campuran. Buat larutan blangko menggunakan tabung sisa berisi *Larutan baku*, sebagai pengganti *Pereaksi pengoksidasi* digunakan *natrium hidroksida* 3,5 N sejumlah volume yang sama dan diperlakukan sama seperti di atas.

Pipet 5 ml *Larutan uji* ke dalam tiap tabung dari tiga atau lebih tabung yang serupa, dan diperlakukan sama seperti *Larutan baku*.

Pada keenam tabung diatas masukkan masing-masing 2,0 ml *etanol mutlak P*, goyang selama beberapa detik, biarkan lapisan memisah dan enaptuangkan atau ambil lebih kurang 10 ml beningan larutan isobutil-alkohol ke dalam kuvet yang telah dibakukan, ukur fluoresensi pada panjang gelombang maksimum emisi lebih kurang 435 nm dengan panjang gelombang maksimum eksitasi lebih kurang 365 nm.

**Perhitungan** Hitung jumlah  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$  dalam µg per 5 ml *Larutan uji*, dengan rumus:

$$\frac{(A - b)}{(S - d)}$$

*A* dan *S* berturut-turut adalah fluoresensi rata-rata dari *Larutan uji* dan *Larutan baku* yang direaksikan dengan *Pereaksi pengoksidasi*; *b* dan *d* berturut-turut adalah fluoresensilarutan blangko dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*. Hitung jumlah tiamin hidroklorida  $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ , dalam mg contoh berdasarkan jumlah alikot yang digunakan. Bila yang diuji adalah tiamin mononitrat,  $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ , kalikan dengan faktor 0,9706.

## PENETAPAN PENISILIN G <661>

Cara ini digunakan untuk menetapkan kandungan penisilin G dalam substansi antibiotik, jika suatu persyaratan tertera pada monografi.

**Dapar fosfat 0,05 M, pH 6** Larutkan 6,8 g *kalium fosfat monobasa P* dalam 900 ml air, atur pH hingga 6 dengan *natrium hidroksida* 1 N, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Fase gerak** Buat campuran *Dapar fosfat 0,05 M pH 6* dan *asetonitril P* (4:1), saring melalui penyaring

membran dengan porositas 5 µm atau lebih halus, dan awaudarakan.

**Larutan baku** Timbang saksama lebih kurang 80 mg *Penisilin G Kalium BPFi*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan lebih kurang 50 ml *Fase gerak*, kocok sampai larut, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan lain dalam monografi; lakukan seperti tertera pada *Larutan baku*.

**Larutan kesesuaian sistem** Buat larutan penisilin V kalium dalam *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 1 mg per ml. Campurkan larutan ini dan *Larutan baku* volume sama.

**Sistem kromatografi** Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair dilengkapi dengan detektor 225 nm dan kolom 30 cm x 4 mm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 10 µm. Laju alir lebih kurang 2 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku* dan *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama seperti tertera pada *Prosedur*: efisiensi kolom ditentukan dari puncak analit tidak kurang dari 600 lempeng teoritis; resolusi, *R*, antara puncak penisilin G dan penisilin V tidak kurang dari 2,0; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 1,0%.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µl) *Larutan baku*, *Larutan uji* dan *Larutan kesesuaian sistem* ke dalam kromatograf, ukur respons puncak utama. Waktu retensi relatif penisilin G ( $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ ) dalam zat uji dengan rumus:

$$\left( \frac{G_s W_s}{W_u} \right) \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

$G_s$  adalah kandungan penisilin G, dalam persen terhadap *Penisilin G Kalium BPFi*;  $W_s$  dan  $W_u$  berturut-turut adalah jumlah dalam mg *Penisilin G Kalium BPFi* dan zat uji;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respons puncak *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

## PENGAMBILAN CONTOH DAN METODE ANALISIS SIMPLISIA <671>

### Pengambilan Contoh

Perlu diperhatikan bahwa contoh suatu simplisia harus mewakili betas yang diuji, untuk mengurangi penyimpangan yang disebabkan oleh kesalahan pengambilan contoh terhadap hasil analisis baik kualitatif maupun kuantitatif. Cara pengambilan contoh berikut merupakan cara paling sederhana yang dapat diterapkan untuk bahan nabati. Beberapa bahan produk atau metode pengujian tertentu memerlukan cara kerja yang lebih ketat, termasuk kebutuhan pengambilan contoh dari wadah yang lebih banyak dan atau pengambilan contoh yang lebih banyak dari setiap wadah.

**Contoh dalam skala besar** Jika pada pengamatan bagian luar wadah, penandaan dan keterangan etiket menunjukkan bahwa bets dapat dianggap homogen, ambil contoh secara terpisah dari berbagai wadah yang dipilih secara acak sesuai ketentuan di bawah ini. Jika bets tidak dapat dianggap homogen, bagi menjadi beberapa sub-bets yang sehomogen mungkin, kemudian lakukan pengambilan contoh pada masing-masing sub-bets seperti pada bets yang homogen.

Jumlah wadah dalam bets ( <i>N</i> )	Jumlah wadah yang harus diambil contohnya ( <i>n</i> )
1 sampai 10	Semua
11 sampai 19	11
> 19	$n = 10 + \left(\frac{N}{10}\right)$

*Catatan Bulatkan harga n ke angka yang lebih tinggi.*

Contoh bahan harus diambil pada bagian atas, tengah dan bawah dari setiap wadah. Jika contoh bahan terdiri dari bagian-bagian berukuran 1 cm atau lebih kecil dan untuk semua bahan yang diserbukkan atau digiling, lakukan pengambilan contoh dengan menggunakan suatu alat pengambil contoh yang dapat menembus bahan dari bagian atas ke bagian bawah wadah, tidak kurang dari dua kali pengambilan yang dilakukan pada arah yang berlawanan. Jika bahan berupa bagian dengan ukuran lebih dari 1 cm, lakukan pengambilan contoh dengan tangan. Untuk bahan dalam wadah atau bungkus yang besar pengambilan contoh harus dilakukan pada kedalaman 10 cm, karena kelembaban bagian permukaan mungkin berbeda dengan bagian dalam.

Persiapkan contoh dalam skala besar dengan menggabungkan dan mencampurkan setiap contoh yang telah diambil dari setiap wadah yang telah terbuka, dan dijaga jangan sampai terjadi kenaikan tingkat fragmentasi atau mempengaruhi derajat kelembaban secara bermakna.

**Contoh dalam skala laboratorium** Persiapkan contoh laboratorium dengan membagi contoh dalam skala besar menjadi empat bagian [*Catatan Cara membagi empat adalah dengan menempatkan contoh, yang telah dicampur dengan baik, diratakan dalam bentuk tumpukan segi empat dan sama rata, kemudian dibagi secara diagonal menjadi empat bagian sama. Ambil kedua bagian yang berlawanan dan campur secara hati-hati. Ulangi proses ini secukupnya sampai diperoleh jumlah yang diperlukan.*]

Contoh skala laboratorium harus mencukupi untuk memenuhi kebutuhan semua pengujian yang diperlukan.

**Contoh untuk pengujian** Kecuali dinyatakan lain pada monografi, buat contoh pengujian sebagai berikut:

Perkecil ukuran contoh dalam skala laboratorium dengan membagi empat, jaga agar setiap bagian dapat mewakili. Pada bahan yang tidak digiling atau tidak diserbukkan, giling contoh sehingga melewati pengayak nomor 20, dan campur hasil ayakan. Jika bahan tidak

dapat digiling, perkecil sedapat mungkin sehingga menjadi lebih halus, campur dengan mengguling-gulingkan pada kertas atau kain, sebarakan menjadi lapisan tipis dan ambil bagian untuk pengujian.

### Bahan Organik Asing

**Contoh untuk pengujian** Kecuali dinyatakan lain dalam monografi, timbang sejumlah contoh dalam skala laboratorium seperti di bawah ini, usahakan agar bagian yang diambil mewakili (jika perlu dibagi empat):

Akar, rimpang, kulit batang dan herba	500 g
Daun, bunga, biji dan buah	250 g
Potongan bagian tanaman (bobot rata-rata setiap potongan kurang dari 500 mg)	50 g

Tebarkan contoh menjadi suatu lapisan tipis dan pisahkan bahan organik asing dengan tangan sesempurna mungkin. Timbang dan hitung persentase bahan organik asing terhadap bobot contoh yang digunakan.

### Penetapan Kadar Abu

Timbang saksama, dalam krus yang telah ditara, sejumlah contoh setara dengan 2 - 4 g bahan yang telah dikeringkan di udara; pijarkan perlahan-lahan, kemudian naikkan suhu secara bertahap hingga  $675^{\circ}\pm 25^{\circ}$  sampai bebas karbon dan tetapkan bobot abu. Jika abu bebas karbon tidak dapat diperoleh dengan cara tersebut, lakukan penyarian dengan air panas, tampung sisa yang tidak larut pada kertas saring bebas abu, pijarkan residu dan kertas saring sampai abu berwarna putih atau hampir putih, kemudian tambahkan filtrat, uapkan sampai kering, dan panaskan hingga suhu  $675^{\circ}\pm 25^{\circ}$ . Jika abu bebas karbon tidak dapat diperoleh dengan cara ini, dinginkan krus, tambahkan 15 ml *etanol P*, lepaskan abu dengan pengaduk gelas, bakar *etanol* dan panaskan lagi isi krus hingga suhu  $675^{\circ}\pm 25^{\circ}$ . Dinginkan dalam desikator, timbang abu dan hitung kadar abu dalam persen terhadap bobot contoh yang digunakan.

### Penetapan Kadar Abu yang Tidak Larut dalam Asam

Didihkan abu yang diperoleh seperti tertera pada *Penetapan kadar abu* dengan 25 ml *asam klorida 3 N* selama 5 menit, kumpulkan bagian tidak larut pada krus kaca masir yang telah ditara atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan dan timbang. Hitung kadar abu tidak larut dalam asam, dalam persen, dihitung terhadap bobot contoh yang digunakan.

### Penetapan Serat Kasar

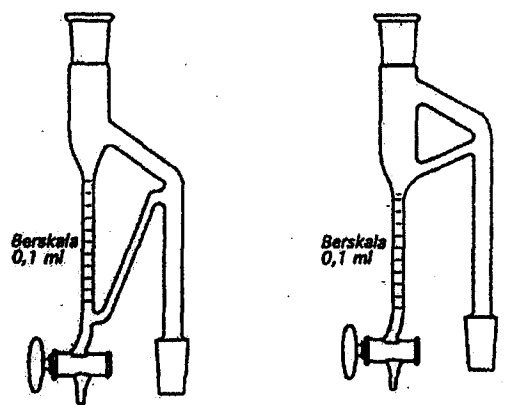
Timbang sejumlah contoh yang setara dengan 2 g bahan, ekstraksi dengan *eter P*. Tambahkan 200 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 78) yang mendidih, pada sisa penyarian dalam labu 500 ml dan refluks selama tepat 30 menit; saring melalui kain linen atau kertas saring yang dikeraskan. Cuci residu yang terdapat pada penyaring

dengan air mendidih hingga cairan pencuci tidak bereaksi asam. Masukkan residu ke dalam labu dengan dibilas menggunakan 200 ml larutan *natrium hidroksida* P 1,25% yang mendidih, yang telah ditepatkan menjadi 1,25% dengan titrasi dan bebas dari natrium karbonat. Refluks kembali campuran selama tepat 30 menit, saring secara cepat melalui penyaring yang telah ditara, cuci residu dengan air mendidih sampai cairan pencuci terakhir bereaksi netral dan keringkan pada suhu 110° hingga bobot tetap. Pijarkan residu yang telah kering sampai bobot tetap, dinginkan dalam desikator dan timbang abu. Perbedaan antara bobot yang diperoleh pada pengeringan pada suhu 110° dan bobot abu yang diperoleh menunjukkan bobot serat kasar.

[Catatan Pendidihan dengan asam dan basa harus dilakukan selama tepat 30 menit dihitung dari saat cairan (yang diinginkan di bawah titik didihnya dengan menuangkannya ke dalam labu dingin) mulai mendidih lagi. Setelah larutan mendidih, pemanasan harus diturunkan secukupnya untuk menjaga tetap mendidih. Selama pendidihan, labu harus secara hati-hati diputar dari waktu ke waktu untuk melepaskan partikel yang mungkin melekat pada dinding labu. Alirkan udara perlahan-lahan ke dalam labu selama pendidihan untuk mencegah buih yang berlebihan.]

#### Penetapan Kadar Minyak Atsiri

Letakkan labu alas bulat 1 liter, berleher pendek, dalam mantel pemanas yang dilengkapi dengan pengaduk magnetik. Masukkan batang pengaduk magnetik ke dalam labu, hubungkan labu dengan pendingin dan alat penampung berskala seperti pada Gambar.



Alat 1  
Untuk minyak atsiri dengan bobot jenis lebih kecil dari air

Alat 2  
Untuk minyak atsiri dengan bobot jenis lebih besar dari air

Timbang secukupnya sejumlah bahan yang telah dihancurkan, hingga diperkirakan dapat menghasilkan 1 ml sampai 3 ml minyak atsiri. Biji yang kecil, buah atau potongan daun dari herba pada umumnya tidak perlu dihancurkan. Serbuk yang sangat halus harus dihindari. Jika hal ini tidak memungkinkan, bahan dapat dicampur dengan serbuk gergaji atau pasir yang telah dimurnikan. Masukkan sejumlah bahan yang telah ditimbang saksama

ke dalam labu, dan tambahkan air sampai setengah dari labu. Hubungkan dengan bagian pendingin dan penampung berskala. Didihkan isi labu dengan pemanasan yang sesuai untuk menjaga agar pendidihan berlangsung tidak terlalu kuat selama 2 jam, atau sampai minyak atsiri terdestilasi sempurna dan tidak bertambah lagi dalam bagian penampung berskala.

Jika sejumlah volume minyak atsiri telah tertampung dalam bagian penampung berskala, pencatatan dapat dilakukan dengan pembacaan sampai 0,1 ml, dan volume minyak atsiri untuk setiap 100 g bahan dapat dihitung dari bobot bahan yang ditimbang. Skala pada penampung untuk minyak atsiri dengan bobot jenis lebih besar dari air diletakkan sedemikian hingga minyak akan tertampung di bawah kondensasi air, sehingga secara otomatis air kembali ke dalam labu.

#### Penetapan Kadar Air

Untuk bahan yang tidak dihaluskan atau tidak diserbukkan, siapkan lebih kurang 10 g sampel laboratorium, dengan memotong, membentuk granul atau mengiris hingga diperoleh bagian dengan ketebalan lebih kurang 3 mm. Biji atau buah lebih kecil dari 3 mm harus dipecahkan. Hindarkan penggunaan alat penyerbuk dengan kecepatan tinggi pada penyiapan contoh; dan harus dijaga agar tidak terjadi kehilangan air selama proses penyiapan contoh dan bagian yang diambil mewakili contoh dalam skala laboratorium. Tetapkan kadar air seperti tertera pada *Prosedur untuk Obat Tanaman* dalam *Penetapan Kadar Air* <1031> *Metode III*.

#### TITRIMETRI <711>

**Titration Langsung** adalah perlakuan terhadap suatu senyawa yang larut (titrat), dalam suatu bejana yang sesuai, dengan larutan yang sesuai yang sudah dibakukan (titran), dan titik akhir ditetapkan dengan instrumen atau secara visual menggunakan bantuan indikator yang sesuai.

Titran ditambahkan dari buret yang dipilih sedemikian hingga sesuai dengan kekuatannya (normalitas), dan volume yang ditambahkan adalah antara 30% dan 100% kapasitas buret. [Catatan Jika dibutuhkan titran kurang dari 10 ml, harus digunakan mikroburet yang sesuai.] Titrasi dilakukan dengan cepat tetapi hati-hati, mendekati titik akhir titran ditambahkan tetes demi tetes dari buret agar tetes terakhir yang ditambahkan tidak melewati titik akhir. Jumlah senyawa yang dititrasi dapat dihitung dari volume dan faktor normalitas atau molaritas titran dan faktor kesetaraan untuk senyawa, yang tertera pada masing-masing monografi.

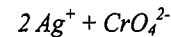
**Titration Residual** Beberapa penetapan kadar dalam Farmakope memerlukan penambahan larutan volumetrik yang terukur, berlebih dari jumlah yang sebenarnya diperlukan untuk bereaksi dengan senyawa yang ditetapkan kadarnya, kelebihan larutan ini kemudian dititrasi dengan larutan volumetrik kedua. Titrasi ini

dikenal sebagai "titrasi kembali". Jumlah senyawa yang dititrasi dapat dihitung dari selisih antara volume larutan volumetrik yang ditambahkan mula-mula dan volume titran dalam titrasi kembali, dengan memperhatikan faktor normalitas atau molaritas kedua larutan dan faktor kesetaraan untuk senyawa yang tertera pada masing-masing monografi.

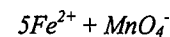
**Penetapan Titik Akhir (Menggunakan Indikator atau secara Potensiometrik)** Metode yang sederhana dan paling mudah untuk penetapan titik kesetaraan, yaitu titik pada saat reaksi analitik stokiometri sempurna, dapat ditetapkan dengan penggunaan indikator. Bahan kimia ini biasanya berwarna, dan memberikan respons untuk berubah dalam kondisi larutan sebelum dan sesudah titik kesetaraan dengan menunjukkan perubahan warna yang dapat dilihat secara visual sebagai titik akhir dan merupakan perkiraan titik kesetaraan yang dapat dipercaya.

Metode yang juga berguna untuk penetapan titik akhir adalah yang menggunakan pengukuran elektrokimia. Jika suatu elektrode indikator yang peka terhadap kadar senyawa yang bereaksi dan suatu elektrode pembanding yang potensialnya tidak peka terhadap berbagai senyawa yang terlarut dicelupkan dalam titrat sehingga membentuk sel Galvanik, perbedaan potensial antara kedua elektrode dapat dideteksi dengan pH meter dan sekaligus dapat digunakan untuk mengikuti berlangsungnya reaksi. Jika suatu seri pengukuran ini digambarkan dengan benar (yaitu, untuk titrasi asam-basa, pH terhadap ml tiran yang ditambahkan; untuk titrasi pengendapan, kompleksometri atau titrasi oksidasi-reduksi, mV terhadap ml titran yang ditambahkan), akan dihasilkan kurva sigmoid dengan bagian yang berubah

cepat di sekitar titik kesetaraan. Titik tengah bagian vertikal yang linier ini atau titik infleksi dapat diambil sebagai titik akhir. Titik kesetaraan dapat juga ditetapkan secara matematik tanpa membuat kurva. Walaupun begitu harus dicatat bahwa untuk reaksi asimetris, yaitu reaksi dengan jumlah anion dan kation yang bereaksi tidak sama, titik akhir yang ditunjukkan oleh titik infleksi kurva titrasi tidak terdapat tepat pada titik kesetaraan stokiometri. Jadi, deteksi titik akhir secara potensiometrik dengan cara ini tidak sesuai untuk reaksi asimetris, sebagai contoh adalah reaksi pengendapan,



dan reaksi oksidasi reduksi,



Semua reaksi asam-basa adalah simetris. Jadi, deteksi titik akhir secara potensiometrik dapat digunakan dalam titrasi asam-basa dan titrasi lain yang melibatkan reaksi *reversibel* simetris, dengan indikator yang sudah ditentukan, kecuali jika dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

Ada dua jenis titrator elektrometrik otomatis. Titrator jenis pertama dapat menambahkan titran secara otomatis dan mencatat beda potensial selama titrasi berlangsung sebagai kurva sigmoid. Pada jenis kedua, penambahan titran dilakukan secara otomatis sampai tercapai potensial atau pH, yang menunjukkan titik akhir, dan pada titik tersebut penambahan titran akan berhenti.

Beberapa sistem elektrode yang dapat digunakan untuk titrasi potensiometri dapat dilihat dalam *Tabel 1*.

**Tabel 1 Sistem Elektrode Titrasi Potensiometri**

Titration	Indicator Electrode	Equation <sup>1</sup>	Reference Electrode	Application <sup>2</sup>
Asam-basa	Glass	$E = k + 0,0591 \text{ pH}$	Kalomel atau perak-perak klorida	Titration of acids
Precipitation (precipitation)	Mercurous	$E = E^\circ + 0,0591 \log [Ag^+]$	Kalomel (with potassium salt bridge)	Titration with or without mercurous chloride involving halides or thiocyanate
Complexometry	Mercurous (II)	$E = E^\circ + 0,0296 (\log k' - pM)$	Kalomel	Titration of various metals (M), such as $Mg^{2+}$ , $Ca^{2+}$ , $Al^{3+}$ , $Bi^{3+}$ , with EDTA
Oxidation-reduction	Platinum	$E = E^\circ + \frac{0,0591}{n} \log \frac{[oks]}{[red]}$	Kalomel atau perak-perak klorida	Titration with arsenite, bromine, cerium(IV), dichromate, hexamethylenetetramine(III), iodate, nitrite, permanganate, tiosulfate.

<sup>1</sup>Bentuk persamaan Nernst yang sesuai untuk menyatakan sistem elektrode; k = tetapan elektrode kaca, k' = tetapan yang diperoleh dari kesetimbangan Hg-Hg(II)-EDTA; M = setiap logam yang dititrasi dengan EDTA; [oks] dan [red] dari persamaan oks + ne = red.

<sup>2</sup>Daftar ini cukup representatif tapi belum lengkap.

**KOREKSI BLANGKO** Seperti sudah dinyatakan, penetapan titik akhir dalam suatu penetapan titrimetri adalah perkiraan titik kesetaraan reaksi. Validitas perkiraan ini antara lain tergantung pada sifat konstituen titrat dan kadar titran. Koreksi blangko yang sesuai dapat digunakan dalam penetapan titrimetri untuk meningkatkan kepercayaan penetapan titik akhir. Koreksi blangko seperti ini biasanya diperoleh dengan blangko titrasi residual dengan mengulang selengkapnya prosedur yang dibutuhkan terkecuali senyawa yang hendak dianalisis tidak diikutsertakan. Dalam hal demikian, volume titran yang sebenarnya, yang setara dengan senyawa yang dianalisis, adalah volume yang dibutuhkan untuk titrasi blangko dikurangi volume yang dibutuhkan untuk titrasi senyawa. Volume yang terkoreksi yang diperoleh dengan cara ini kemudian digunakan dalam perhitungan kadar senyawa yang dititrasi, seperti yang dinyatakan dalam *Titrasi residual*. Jika digunakan penetapan titik akhir secara potensiometrik, koreksi blangko biasanya diabaikan.

**TITRASI KOMPLEKSOMETRI** Keberhasilan titrasi kompleksometri tergantung dari beberapa faktor. Tetapan kesetimbangan untuk pembentukan kompleks analit-titran harus cukup besar, sehingga pada titik akhir hampir 100% analit sudah membentuk kompleks. Pembentukan akhir dari kompleks harus berlangsung secara cepat. Jika reaksi analisis berjalan lambat, perlu dilakukan titrasi kembali.

Secara umum, indikator kompleksometri berperan sebagai senyawa pembentuk kompleks. Reaksi antara ion logam dan indikator harus cepat dan *reversible*. Tetapan kesetimbangan yang terbentuk dari kompleks logam-indikator harus cukup besar untuk menghasilkan perubahan warna yang tajam, tetapi harus lebih kecil dari tetapan kesetimbangan kompleks logam-titran. Pemilihan indikator sangat ditentukan oleh rentang pH pada saat reaksi kompleks berlangsung, dan juga adanya ion lain yang berasal dari sampel atau dapar. Ion pengganggu dapat ditutup (*masking*) atau dilapis dengan penambahan senyawa pembentuk kompleks lain. (Teknik *masking* ini juga dapat digunakan dalam titrasi reduksi-oksidasi).

#### Prosedur

**Aluminium** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan *Metode I*.

*Metode I* Ke dalam 20,0 ml larutan uji tambahkan 25,0 ml *dinatrium edetat 0,1 M LV* dan 10 ml campuran volume sama *amonium asetat 2 N* dan *asam asetat 2 N*. Panaskan hingga mendidih selama 2 menit, dinginkan dan tambahkan 50 ml *etanol mutlak P* dan 3 ml larutan *ditizon P 0,0025%* dalam *etanol mutlak P* yang dibuat segar. Titrasi kelebihan *dinatrium edetat* dengan *zink sulfat 0,1 M LV* hingga warna berubah dari biru kehijauan menjadi ungu kemerahan.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,1 M*  
setara dengan 2,698 mg Al

*Metode II* Larutkan sejumlah zat uji dalam campuran 2 ml *asam klorida 1 N* dan 50 ml air, tambahkan 50,0 ml *dinatrium edetat 0,05 M LV* dan netralkan dengan

*natrium hidroksida 1 N* menggunakan *merah metil LP* sebagai indikator. Panaskan larutan hingga mendidih, diamkan selama 10 menit di atas tangas air, segera dinginkan, tambahkan lebih kurang 50 mg *jingga xilenol campur P* dan 5 g *heksamina P* dan titrasi kelebihan *dinatrium edetat* dengan *timbal(II) nitrat 0,05 M LV* hingga merah.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,05 M*  
setara dengan 1,349 mg Al

**Bismut** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan *Metode I*.

*Metode I* Encerkan larutan uji dengan air hingga 250,0 ml, dan kecuali dinyatakan lain tambahkan *amonium hidroksida P* tetes demi tetes sambil dikocok hingga larutan mulai keruh. Tambahkan 0,5 ml *asam nitrat P* dan panaskan hingga suhu 70°, pertahankan larutan pada suhu ini hingga larutan jernih. Tambahkan lebih kurang 50 mg *jingga xilenol campur P* dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,1 M LV* hingga warna berubah dari ungu kemerahan menjadi kuning sitrun.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,1 M*  
setara dengan 20,90 mg Bi

*Metode II* Larutkan sejumlah zat uji dalam volume sesedikit mungkin *asam nitrat 2 N*, tambahkan 50 ml air dan atur pH hingga 1 - 2 dengan menambahkan *asam nitrat 2 N* atau *amonium hidroksida 5 N* tetes demi tetes sambil dikocok. Tambahkan lebih kurang 30 mg *jingga xilenol campur P* dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,05 M LV* hingga warna berubah menjadi kuning.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,05 M*  
setara dengan 10,45 mg Bi

**Kalsium** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan *Metode I*.

*Metode I* Encerkan larutan uji dengan air hingga 300 ml, tambahkan 6 ml *natrium hidroksida 10 N* dan lebih kurang 15 ml *asam kalsion karboksilat campur P* dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,1 M LV* hingga warna berubah dari ungu menjadi biru tua.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,1 M*  
setara dengan 4,008 mg Ca

*Metode II* Larutkan sejumlah zat uji dalam beberapa ml air, asamkan bila perlu, encerkan dengan air hingga lebih kurang 50 ml. Titrasi dengan *dinatrium edetat 0,05 M LV* hingga mendekati titik akhir yang diharapkan, tambahkan 4 ml *natrium hidroksida 10 N* dan 100 mg *kalsion campur P* dan lanjutkan titrasi hingga warna berubah dari merah muda menjadi biru.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,05 M*  
setara dengan 2,004 mg Ca

**Timbal** Encerkan larutan uji dengan air hingga 200 ml atau larutkan sejumlah zat uji dalam 5 ml hingga 10 ml air atau dalam sedikit *asam asetat 5 N* dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Tambahkan lebih kurang 50 mg *jingga xilenol campur P* dan *heksamina P* secukupnya hingga warna merah muda ungu. Titrasi dengan *dinatrium edetat 0,05 M LV* atau *0,1 M LV*, seperti tertera pada monografi, hingga warna berubah menjadi kuning sitrun.

*Tiap ml dinatrium edetat 0,1 M  
setara dengan 20,72 mg Pb*

**Magnesium** Encerkan larutan uji dengan air hingga 300 ml atau larutkan sejumlah zat uji dalam 5 - 10 ml air atau dalam sedikit *asam klorida 2 N* dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Tambahkan 10 ml *dapar amonium pH 10,0* dan lebih kurang 50 mg *hitam eriokrom campur P*. Panaskan hingga 40° dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,1 M LV* hingga warna berubah dari ungu menjadi biru.

*Tiap ml dinatrium edetat 0,1 M  
setara dengan 2,431 mg Mg*

**Zink** Encerkan larutan uji dengan air hingga 200 ml atau larutkan sejumlah zat uji dalam sejumlah *asam asetat 2 N* dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Tambahkan lebih kurang 50 mg *jingga xilenol campur P* dan *heksamina P* secukupnya hingga warna merah muda ungu. Tambahkan lagi 2 g *heksamina P* dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,1 M LV* seperti tertera pada monografi, hingga warna berubah menjadi kuning.

*Tiap ml dinatrium edetat 0,1 M  
setara dengan 6,538 mg Zn*

#### **TITRASI OKSIDASI REDUKSI (REDOKS)**

Penetapan dilakukan dengan menggunakan pereaksi yang menyebabkan reaksi oksidasi atau reduksi pada analit. Beberapa kurva titrasi redoks tidak simetris pada titik kesetaraan sehingga penetapan titik akhir dengan grafik tidak mungkin dilakukan, tetapi tersedia indikator untuk beberapa penetapan. Beberapa pereaksi redoks dapat juga berfungsi sebagai indikator. Seperti dalam beberapa tipe titrasi, perubahan warna indikator harus sangat dekat dengan titik kesetaraan. Jika titran yang digunakan juga berfungsi sebagai indikator, perbedaan antara titik akhir dan titik kesetaraan ditetapkan berdasarkan kemampuan analisis melihat perubahan warna. Contoh umum adalah penggunaan ion permanganat sebagai titran pengoksidasi, sedikit kelebihan titran dapat dilihat dengan terjadinya warna merah muda. Titran lain yang dapat berfungsi sebagai indikator adalah iodium, garam serium(IV), dan kalium dikromat. Dalam beberapa keadaan, penggunaan indikator redoks yang tepat akan menghasilkan titik akhir yang lebih tajam.

Mungkin diperlukan penyesuaian tingkat oksidasi dari analit sebelum dilakukan titrasi dengan menggunakan senyawa pengoksidasi atau pereduksi yang tepat; kemudian kelebihan pereaksi harus dihilangkan dengan cara pengendapan. Hal ini hampir selalu dilakukan pada

penetapan senyawa pengoksidasi karena hampir semua larutan volumetrik senyawa pereduksi secara perlahan akan teroksidasi oleh oksigen di atmosfer.

**Titration Bebas Air (Titrasi dalam Pelarut bukan Air)** Asam dan basa adalah senyawa yang memberikan ion hidrogen dan ion hidroksil bila dilarutkan dalam air. Definisi yang diperkenalkan oleh Arrhenius ini tidak mencakup kenyataan bahwa sifat yang spesifik dari asam dan basa ini dapat juga terjadi dalam pelarut lain. Definisi yang lebih umum adalah definisi Bronsted, yang menyatakan bahwa asam adalah suatu senyawa yang dapat memberikan proton, dan basa adalah suatu senyawa yang dapat mengikat proton. Yang lebih luas lagi adalah definisi Lewis, yang menyatakan bahwa asam adalah setiap senyawa yang dapat menerima pasangan elektron, basa adalah bahwa setiap senyawa dapat memberikan pasangan elektron, dan netralisasi adalah pembentukan ikatan koordinasi antara suatu asam dan suatu basa.

Kekuatan suatu asam atau suatu basa ditentukan oleh kemampuannya bereaksi dengan pelarut. Dalam larutan air semua asam kuat tampak sama kuat karena senyawa ini bereaksi dengan pelarut dan konversi sempurna menjadi ion oksonium dan anion asam (efek penyetimbangan). Dalam pelarut protofilik lemah seperti asam asetat, kemampuan pembentukan ion asidum asetat menunjukkan bahwa urutan penurunan kekuatan untuk asam adalah asam perklorat, asam bromida, asam sulfat, asam klorida dan asam nitrat (efek diferensiasi).

Asam asetat bereaksi tidak sempurna dengan air untuk membentuk ion oksonium, oleh karena itu merupakan asam lemah. Sebaliknya, senyawa ini larut dalam basa seperti etilendiamina, dan bereaksi sempurna dengan pelarut, sehingga bersifat sebagai asam kuat. Hal yang sama berlaku juga untuk asam perklorat.

Efek penyetimbangan juga terlihat pada basa. Dalam asam sulfat hampir semua basa berkekuatan sama. Sifat asam sebagai pelarut menurun dalam seri asam sulfat, asam asetat, fenol, air, piridina dan butilamina, dalam serinya sebaliknya sifat basa menurun dan asam yang paling kuat kehilangan sifat basanya. Basa kuat dengan urutan kekuatan yang menurun, adalah natrium 2-aminoetoksida, kalium metoksida, natrium metoksida dan litium metoksida.

Berbagai senyawa tidak larut dalam air memperoleh peningkatan sifat asam atau sifat basa jika dilarutkan dalam pelarut organik. Oleh karena itu pemilihan pelarut yang sesuai dapat memberikan peluang untuk penetapan berbagai senyawa tersebut secara titrasi bebas air. Selanjutnya tergantung bagian mana suatu senyawa merupakan bagian yang aktif, seringkali mungkin untuk mentitrasi bagian ini dengan pemilihan pelarut dan titran yang tepat. Senyawa murni dapat langsung dititrasi, tetapi untuk sediaan farmasi seringkali diperlukan pemisahan zat aktifnya dari eksipien dan pembawa yang mengganggu.

Jenis senyawa yang dapat dititrasi sebagai asam antara lain halida asam, anhidrida asam, asam karboksilat, asam amino, senyawa enol seperti barbiturat dan xantin, imida, fenol, pirol dan sulfonamida. Jenis senyawa yang dapat dititrasi sebagai basa antara lain amina, senyawa

heterosiklik yang mengandung nitrogen, oksazolin, senyawa amonium kuarterner, garam alkali asam organik, garam alkali asam anorganik lemah dan beberapa garam amina. Beberapa garam asam halogen dapat dititrasi dalam asam asetat atau anhidrida asetat setelah penambahan raksa(II) asetat, yang akan mendesak ion halida sebagai kompleks raksa(II) halida yang tak terionisasi dan membebaskan ion asetat.

Untuk titrasi senyawa basa, larutan volumetrik asam perklorat dalam asam asetat glasial lebih disukai, walaupun asam perklorat dalam dioksan juga digunakan dalam keadaan tertentu. Sistem elektrode kaca-kalomel dapat digunakan untuk keadaan ini. Dalam pelarut asam asetat sistem elektrode ini berfungsi sesuai teori.

Untuk titrasi senyawa asam ada dua golongan titran: alkoksida logam alkali dan tetraalkilamonium hidroksida. Larutan volumetrik natrium metoksida dalam campuran metanol dan toluen sering digunakan, walaupun litium metoksida dalam pelarut metanol-benzen banyak digunakan untuk senyawa yang dapat menghasilkan endapan serupa gelatin jika dititrasi dengan natrium metoksida.

Kesalahan alkali membatasi penggunaan elektrode kaca sebagai elektrode indikator dalam hubungannya dengan titran alkoksida logam alkali, terutama dalam pelarut basa. Dengan demikian elektrode indikator antimon, walaupun bersifat agak tidak menentu dapat digunakan untuk titrasi seperti ini. Penggunaan senyawa amonium hidroksida kuartener seperti tetra-n-butilamonium hidroksida dan trimetil heksadesilamonium hidroksida (dalam benzen-metanol atau isopropanol) mempunyai dua keuntungan dibandingkan titran lainnya yaitu (a) garam tetraalkilamonium dari asam yang dititrasi larut dalam media titrasi, dan (b) elektrode kaca-kalomel yang sesuai dapat digunakan untuk titrasi potensiometri.

Karena adanya gangguan oleh karbon dioksida, pelarut untuk senyawa asam harus dilindungi dari paparan atmosfer yang berlebih dengan penutup yang sesuai atau bekerja dengan atmosfer inert selama titrasi. Adanya absorpsi karbon dioksida dapat ditetapkan dengan melakukan penetapan blangko. Blangko tidak boleh melebihi 0,01 ml *natrium metoksida 0,1 N LV* per ml pelarut.

Titik akhir dapat ditentukan secara visual dengan mengamati perubahan warna yang terjadi, atau secara potensiometrik seperti tertera pada masing-masing monografi. Jika digunakan elektrode pembanding kalomel, akan lebih baik jika jembatan garam kalium klorida dalam air digantikan dengan larutan *litium perklorat 0,1 N* dalam asam asetat glasial untuk titrasi dalam pelarut asam, atau kalium klorida dalam metanol untuk titrasi dalam pelarut basa.

Jika campuran ini atau campuran yang lain telah tertera pada masing-masing monografi, elektrode pembanding kalomel dimodifikasi dengan lebih dahulu menghilangkan larutan kalium klorida dalam air dan kalium klorida yang tersisa jika ada, dengan membilasnya dengan air, kemudian menghilangkan sisa air dengan membilas dengan pelarut bebas air yang akan digunakan, dan akhirnya mengisi elektrode dengan campuran bebas air yang sudah ditentukan.

Pada hampir semua kasus, kecuali jika ion perak mengganggu, elektrode kalomel dapat diganti dengan elektrode pembanding perak-perak klorida. Elektrode perak-perak klorida lebih tahan dan digunakan untuk membantu mengurangi penggunaan garam raksa yang beracun di laboratorium. Umumnya, jembatan garam dapat digunakan untuk menghindarkan gangguan ion perak.

Sistem yang dapat digunakan untuk titrasi bebas air dapat dilihat pada *Tabel 2*.

**Tabel 2 Sistem untuk Titrasi Bebas Air**

<i>Jenis Pelarut</i>	<i>Asam</i> (untuk titrasi basa dan garamnya)	<i>Relatif netral</i> (untuk titrasi turunan basa)	<i>Basa</i> (untuk titrasi asam)	<i>Relatif netral</i> (untuk titrasi turunan asam)
Pelarut <sup>1</sup>	Asam asetat glasial Anhidrida asetat Asam format Asam propionat Sulfuril klorida	Asetonitril Alkohol Kloroform Benzen Toluen Klorobenzen Etil Asetat Dioksan	Dimetil formamida n-Butilamina Piridina Etilendiamina Morfolina	Aseton Asetonitril Metil etil keton Metil isobutil keton Tert-Butil alkohol
Indikator	Kristal violet Merah kuinaldin p-Naftol benzein Alfazurin 2-G Hijau malakit	Merah metil Jingga metil p-Naftolbenzein	Biru timol Timolftalein Lembayung azo o-Nitroanilina p-Hidroksiazobenzen	Lembayung azo Biru bromotimol p-Hidroksi azobenzen Biru timol
Elektrode	Kaca-kalomel Kaca-perak-perak klorida Raksa-raksa(II) Asetat	Kaca-kalomel Kalomel-perak-perak klorida	Antimon-kalomel Antimon kaca Antimon-antimon <sup>2</sup> Platina-kalomel Kaca-kalomel	Antimon-kalomel Kaca-kalomel Kaca-platina <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pelarut relatif netral dengan tetapan dielektrik rendah seperti benzen, toluen, kloroform atau dioksan dapat digunakan bersama dengan berbagai pelarut asam atau basa untuk meningkatkan sensitivitas titik akhir titrasi.

<sup>2</sup>Dalam titran



## Prosedur

### Metode I

Larutkan sejumlah zat uji dalam sejumlah volume yang sesuai asam asetat glasial *P* yang sebelumnya dinetralkan terhadap indikator seperti tertera pada monografi, jika perlu hangatkan dan dinginkan, atau buat larutan seperti yang ditentukan. Jika zat uji berupa garam asam klorida atau bromida, tambahkan 15 ml *raksa(II) asetat LP*, kecuali dinyatakan lain dalam monografi. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 N LV hingga perubahan warna indikator yang sesuai dengan harga mutlak maksimum  $dE/dV$  ( $E$  adalah daya elektromotif dan  $V$  adalah volume titran) dalam titrasi potensiometri. Indikator yang tertera pada monografi juga digunakan untuk menetralkan *raksa(II) asetat LP* dan pembakuan titran.

Jika suhu titran pada saat penetapan ( $t_2$ ) berbeda dari suhu titran pada saat pembakuan ( $t_1$ ), kalikan volume titran yang diperlukan dengan  $[1+0,0011(t_1-t_2)]$  dan hitung hasil penetapan dari volume terkoreksi.

Titrasi potensiometri dapat dilakukan menggunakan elektrode kaca dan elektrode pembanding kalomel jenuh (pastikan tidak terjadi kebocoran dari larutan jembatan garam) atau gunakan elektrode kombinasi. Hubungan antara elektrode kalomel dan cairan titrasi harus mempunyai tahanan listrik cukup rendah dan perpindahan cairan dari satu sisi ke sisi lain harus seminimum mungkin. Pembacaan hasil pengukuran kurang dari nol dapat dihindari dengan menggunakan sumber daya elektromotif stabil yang dipasang secara seri dengan sistem elektrode. Ketidakstabilan dapat terjadi, jika sambungan antara potensiometer dan sistem elektrode tidak sesuai dengan petunjuk pabrik.

### Metode II

Gunakan titran, pelarut dan indikator seperti tertera pada monografi.

Lindungi larutan dan titran dari karbon dioksida dan lembab dari udara selama penetapan.

Larutkan sejumlah zat uji dalam sejumlah volume pelarut yang sesuai, yang sebelumnya telah dinetralkan terhadap indikator, jika perlu hangatkan dan dinginkan, atau buat larutan seperti yang ditentukan. Titrasi hingga perubahan warna indikator yang sesuai dengan harga mutlak maksimum  $dE/dV$  ( $E$  adalah daya elektromotif dan  $V$  adalah volume titran) dalam titrasi potensiometri. Titran dibakukan menggunakan pelarut dan indikator yang sama seperti yang ditentukan untuk zat tersebut.

Titrasi potensiometri dapat dilakukan menggunakan elektrode kaca dan elektrode pembanding kalomel jenuh, larutan jenuh kalium klorida *P* dalam air diganti dengan larutan jenuh kalium klorida *P* dalam metanol *P*. Hubungan antara elektrode kalomel dan cairan titrasi harus mempunyai tahanan listrik cukup rendah dan perpindahan cairan dari satu sisi ke sisi lain harus seminimum mungkin. Pembacaan hasil pengukuran kurang dari nol dapat dihindari dengan menggunakan sumber daya elektromotif stabil yang dipasang secara seri dengan sistem elektrode. Ketidakstabilan dapat

terjadi, jika sambungan antara potensiometer dan sistem elektrode tidak sesuai dengan petunjuk pabrik.

**TITRASI NITRIMETRI** Metode ini umum digunakan untuk penetapan sebagian besar obat sulfonamida dan sediaan dalam Farmakope, juga obat-obat lain jika titrasi nitrimetri ini sesuai untuk digunakan.

**Baku pembanding Sulfanilamida BPFI**; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung cahaya.

**Prosedur Timbang saksama** lebih kurang 500 mg sulfonamida atau sejumlah yang tertera pada monografi dan masukkan ke dalam gelas piala yang sesuai. Tambahkan 20 ml asam klorida *P* dan 50 ml air, aduk hingga larut, dinginkan hingga suhu lebih kurang 15° dan titrasi perlahan dengan natrium nitrit 0,1 M LV yang sebelumnya telah dibakukan terhadap Sulfanilamida BPFI.

Tetapkan titik akhir secara elektrometrik, menggunakan elektrode yang sesuai (platina-kalomel atau platina-platina). Tempatkan ujung buret di bawah permukaan larutan untuk menghindari oksidasi oleh udara terhadap natrium nitrit dan aduk larutan perlahan menggunakan pengaduk magnetik, tanpa menimbulkan putaran udara di bawah permukaan, dan pertahankan suhu pada lebih kurang 15°. Titrasi dapat dilakukan secara manual atau menggunakan titrator otomatis. Pada titrasi secara manual, tambahkan titran hingga 1 ml mendekati titik akhir, kemudian tambahkan setiap kali 0,1 ml titran dengan selang waktu tidak kurang dari 1 menit (jarum alat menyimpang dan kembali mendekati posisi semula hingga titik akhir tercapai).

Bobot zat dalam mg per ml natrium nitrit 0,1 M LV setara dengan yang tertera pada masing-masing monografi.

*Penetapan kadar tablet sulfonamida atau obat lain* Timbang dan serbuk haluskan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang saksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 500 mg sulfonamida atau sejumlah obat yang tertera dalam masing-masing monografi dan lakukan penetapan mulai dari "Masukkan ke dalam gelas piala yang sesuai...".

*Penetapan kadar injeksi dan sediaan cairan lain* Pipet sejumlah volume setara dengan lebih kurang 500 mg sulfonamida atau sejumlah obat yang tertera dalam masing-masing monografi, ke dalam gelas piala yang sesuai dan lakukan penetapan mulai dari "Tambahkan 20 ml asam klorida *P*...".

## TUTUP ELASTOMERIK UNTUK INJEKSI

<721>

Penutup elastomerik untuk wadah yang digunakan pada tipe sediaan yang ditetapkan pada *Injeksi* dibuat dari bahan yang dibuat melalui proses vulkanisasi polimerisasi, poliadisi, atau polikondensasi bahan organik makromolekular (elastomer). Formulasi penutup

terdiri dari elastomer alami atau sintetis dan bahan tambahan organik dan anorganik untuk membantu atau mengendalikan vulkanisasi, memberi sifat fisika, kimia dan warna atau menstabilkan formulasi penutup.

Bab ini berlaku untuk penutup yang digunakan untuk penyimpanan jangka panjang sediaan yang ditetapkan dalam sediaan umum *Injeksi*. Tutup yang khusus digunakan sebagai bagian dari vial, botol, atau sistem kemasan alat injeksi yang telah berisi sediaan.

Bab ini berlaku untuk penutup yang diformulasi dari bahan elastomerik alami atau sintetis. Bab ini tidak berlaku untuk penutup yang dibuat dari elastomer silikon; akan tetapi berlaku untuk penutup yang dilapisi silikon (misalnya dimetikon). Apabila melakukan pengujian berdasarkan bab ini, tidak disyaratkan menggunakan penutup yang dilapisi silikon, meskipun tidak ada larangan untuk menggunakan tutup silikon.

Bab ini juga berlaku untuk penutup yang dilapisi dengan bahan pelincir lain (misalnya bahan yang terikat secara kimia atau mekanik pada penutup) yang tidak dimaksudkan atau tidak menyebabkan hambatan ke dasar elastomer. Apabila melakukan pengujian, penutup tanpa penghalang pelincir akan diuji dalam kondisi terlapis.

Penjelasan berikut hanya berkaitan dengan penutup yang dilaminasi atau dilapisi dengan bahan yang menjadi penghalang terhadap dasar elastomer (misal PTFE atau lapisan pelincir). Tidak diperbolehkan menggunakan bahan penghalang untuk mengubah tutup yang tidak memenuhi persyaratan menjadi memenuhi persyaratan kompendial. Oleh karena itu seluruh *Uji Fisikokimia* dilakukan pada formula dasar penutup, seperti penutup yang dilapisi atau dilaminasi. Untuk memperoleh hasil *Uji Fisikokimia*, uji dilakukan terhadap penutup yang tidak dilapis atau dilaminasi dengan bahan elastomer yang sama, seperti halnya pada tutup yang dilapisi. *Uji Fungsi* dilakukan dengan menggunakan tutup elastomerik yang dilapisi atau dilaminasi. *Uji Biologi* digunakan pada bahan pelapis atau laminasi, seperti pada formula dasar. *Uji Biologi* dapat dilakukan pada tutup yang dilaminasi atau dilapisi, atau bahan pelapis/laminasi, atau tutup yang tidak dilapisi atau dilaminasi dengan bahan elastomerik yang sama. Hasil akhir pengujian akan dilaporkan secara terpisah. Uji fisikokimia atau uji biologi menggunakan formula dasar untuk pemenuhan persyaratan farmakope untuk penutup yang dilapisi sesuai dengan bentuk dan ukuran penutup yang dilapisi.

Untuk semua uji pada bab ini yang dilakukan untuk setiap tipe penutup, perlu dilakukan dokumentasi sampel yang diuji, termasuk gambaran lengkap elastomer, pelincir, pelapis, laminasi atau perlakuan.

Bab ini mencantumkan uji batas untuk penutup elastomer Tipe I dan Tipe II. Penutup Tipe I digunakan untuk sediaan berbasis air. Penutup Tipe II digunakan untuk sediaan tidak berbasis air dan untuk sediaan yang mempunyai sifat khusus, sehingga mungkin tidak memenuhi semua persyaratan penutup Tipe I karena sifat fisik, konstruksi bahan atau keduanya. Jika penutup tidak memenuhi satu atau lebih persyaratan uji Tipe I, tetapi

masih memenuhi persyaratan uji Tipe II, maka penutup diklasifikasi sebagai Tipe II. Semua penutup elastomer yang digunakan untuk sediaan injeksi harus memenuhi uji batas Tipe I atau Tipe II. Akan tetapi spesifikasi ini tidak dimaksudkan sebagai satu-satunya kriteria evaluasi untuk seleksi penutup.

Bab ini tepat digunakan untuk identifikasi penutup elastomerik sediaan injeksi berdasarkan reaktivitas biologinya, sifat fisikokimia ekstrak berbasis air, dan kegunaannya.

Berikut persyaratan evaluasi penutup yang tidak termasuk dalam bab ini:

- Penetapan uji identifikasi dan spesifikasi penutup
- Verifikasi kesesuaian fisikokimia sediaan dengan penutup
- Identifikasi dan penetapan keamanan kemampuan zat kimia bermigrasi secara spontan pada penutup yang ditemukan pada kemasan sediaan.
- Verifikasi fungsi penutup kemasan sediaan dalam kondisi penyimpanan dan penggunaan.

Pabrik pembuat sediaan injeksi (pengguna) harus mendapatkan jaminan dari pemasok penutup bahwa komposisi penutup tidak bervariasi dan sama dengan penutup yang digunakan dalam uji kesesuaian. Apabila pemasok menginformasikan kepada pengguna adanya perubahan komposisi, uji kesesuaian harus diulang, secara total atau sebagian, tergantung sifat perubahan. Penutup harus disimpan baik, bersih dan bebas dari kontaminan lingkungan dan endotoksin, dan untuk proses aseptik selanjutnya, harus disterilkan sebelum digunakan sebagai kemasan sediaan injeksi.

**Karakteristik Penutup elastomerik bening atau opak** dan tidak memiliki karakteristik warna tertentu, warna penutup tergantung bahan tambahan yang digunakan. Penutup bersifat homogen dan praktis bebas dari serpihan dan bahan asing (misalnya serat, partikel asing dan sisa karet).

**Identifikasi Penutup** dibuat dari berbagai variasi bahan elastomerik dengan pelapis polimerik yang dapat dipilih. Oleh karena itu, untuk menetapkan uji identifikasi yang mencakup semua kemungkinan jenis penutup, tidak termasuk bab ini. Akan tetapi, pemasok penutup dan pabrik pembuat sediaan injeksi (pengguna) bertanggung jawab untuk melakukan verifikasi terhadap formulasi penutup elastomerik dan setiap bahan pelapis atau laminasi yang digunakan dengan uji identifikasi yang sesuai. Beberapa contoh metodologi uji yang dapat digunakan termasuk bobot jenis; kadar abu; kadar sulfur; uji FTIR-ATR; kromatografi lapis tipis dan spektrofotometri serapan UV dari ekstrak atau spektrofotometri serapan IR dari pirolisat.

**Prosedur Uji Penutup elastomerik** harus memenuhi persyaratan biologi, fisikokimia dan fungsi mulai dari pengiriman oleh pemasok penutup ke pabrik pembuat sediaan injeksi (pengguna) dan tahap akhir siap-pakai.

Oleh karena itu, pada proses pembuatan penutup elastomer yang dilakukan oleh pemasok sebelum didistribusi ke pengguna, pemasok harus menunjukkan bahwa penutup memenuhi persyaratan kompendial mengenai kemampuan penutup terhadap paparan pada proses tertentu atau tahapan sterilisasi. Sama halnya jika penutup elastomerik yang diterima oleh pengguna akan diproses atau disterilisasi lagi, pengguna bertanggung jawab untuk menunjukkan bahwa penutup tetap memenuhi persyaratan kompendial setelah proses tertentu atau proses sterilisasi. Hal ini penting terutama jika penutup akan terpapar pada proses atau kondisi yang berpengaruh secara nyata terhadap karakteristik biologi, fisikokimia dan fungsi penutup (misal radiasi sinar Gamma).

Untuk penutup yang biasanya diberi pelincir silikon sebelum digunakan, diperbolehkan untuk melakukan pengujian fisikokimia pada penutup yang belum diberi pelincir, untuk menghindari kemungkinan gangguan pada metode dan kesulitan interpretasi hasil uji. Untuk tutup berpelincir lain tanpa penghalang, seluruh uji harus dilakukan dengan penutup yang dilapisi.

Untuk penutup yang dilapisi atau dilaminasi dengan pelapis yang berfungsi sebagai penghalang (misalnya PTFE atau lapisan pelincir), uji fisikokimia kompendial diterapkan pada dasar elastomer tidak berlapis, seperti pada penutup berlapis. Dalam hal ini pemasok bertanggung jawab untuk menunjukkan bahwa penutup yang berlapis memenuhi kompendial fisikokimia, seperti pada tutup yang tidak berlapis, dengan proses atau perlakuan dalam kondisi simulasi tertentu yang harus dilakukan oleh pemasok untuk penutup tersebut sebelum dikirim ke pengguna. Ukuran dan konfigurasi penutup tidak berlapis yang digunakan untuk uji fisikokimia harus sama dengan penutup yang berlapis. Pengguna penutup yang berlapis juga bertanggung jawab untuk menunjukkan bahwa penutup yang dilapisi memenuhi kompendial fisikokimia, dengan proses atau perlakuan dalam kondisi simulasi tertentu yang dilakukan oleh pengguna sebelum digunakan.

Dalam laporan hasil uji harus dicantumkan semua kondisi dalam proses pembuatan penutup, pra-perlakuan, sterilisasi atau pelincir.

Persyaratan uji penutup serta tanggung jawab pemasok dan pengguna tercantum *Tabel 1*.

**Tabel 1**

Tipe penutup (seperti yang tersedia atau yang digunakan)	Persyaratan Uji		
	Uji Fisikokimia	Uji Fungsi	Uji Biologi
Penutup dengan atau tanpa lapisan silikon	Dilakukan Pilihan bila menggunakan silikon. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna	Dilakukan Pilihan bila menggunakan silikon. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna	Dilakukan Pilihan bila menggunakan silikon. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna
Penutup dengan lapisan pelincir (bahan tanpa penghalang; bukan silikon)	Dilakukan pada penutup yang dilapisi. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna	Dilakukan pada penutup yang dilapisi. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna	Dilakukan pada penutup yang dilapisi. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna
Penutup dengan lapisan penghalang	Dilakukan pada penutup yang dilapisi. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna DAN Dilakukan pada penutup yang belum dilapisi (formula dasar) Penanggung jawab: Pemasok	Dilakukan pada penutup yang dilapisi. Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna	Dilakukan pada penutup yang dilapisi ATAU Dilakukan pada penutup yang belum dilapisi (formula dasar) dan bahan pelapis (laporan hasil uji terpisah). Penanggung jawab: Pemasok dan Pengguna

**Uji Biologi** Terdapat dua tahapan uji. Tahap pertama adalah prosedur uji in-vitro seperti yang dijelaskan dalam lampiran *Uji Reaktivitas Secara Biologi, In-Vitro <241>*. Bahan yang tidak memenuhi syarat uji in-vitro diuji kembali pada tahap kedua, yaitu uji in-vivo *Uji Injeksi Sistemik dan Uji Intrakutan* pada lampiran dalam *Uji Reaktivitas Secara Biologi, In-Vivo <251>*. Bahan yang sudah memenuhi syarat uji in-vitro tidak perlu uji in-vivo.

Penutup Tipe I dan Tipe II harus memenuhi persyaratan uji reaktivitas biologi in-vitro atau in-vivo.

**Uji Fisikokimia**

**Persiapan Larutan S** Masukkan seluruh penutup yang belum dipotong dengan luas permukaan  $100 \pm 10 \text{ cm}^2$  ke dalam wadah kaca yang sesuai. Rendam tutup dengan 200 ml *Air Murni* atau *Air untuk Injeksi*. Jika tidak memungkinkan mendapatkan penutup yang belum dipotong dengan luas permukaan  $100 \pm 10 \text{ cm}^2$ , pilih sejumlah tutup dengan luas area mendekati  $100 \text{ cm}^2$ , dan atur volume air yang digunakan setara 2 ml per  $\text{cm}^2$  permukaan penutup yang sebenarnya digunakan. Didihkan selama 5 menit, dan bilas lima kali dengan *Air Murni* atau *Air untuk Injeksi* dingin.

Masukkan penutup yang telah dicuci ke dalam labu kaca berleher besar Tipe I seperti tertera pada *Wadah gelas <1271>*, tambahkan sejumlah sama *Air Murni* atau *Air untuk Injeksi* yang ditambahkan sebelumnya pada penutup dan timbang. Tutup mulut labu dengan gelas piala Tipe I.

Panaskan dalam otoklaf hingga suhu  $121 \pm 2^\circ\text{C}$  yang dicapai dalam 20 – 30 menit dan pertahankan selama

30 menit. Dinginkan pada suhu ruang selama lebih kurang 30 menit. Tambahkan *Air Murni* atau *Air untuk Injeksi* untuk mencapai bobot awal. Kocok, segera tuang dan kumpulkan larutan. [Catatan Larutan ini harus dikocok sebelum digunakan untuk setiap uji.]

**Persiapan Blangko** Siapkan larutan blangko dengan cara yang sama menggunakan 200 ml *Air Murni* atau *Air untuk Injeksi* tanpa penutup.

Tabel 2

	Suspensi Pembanding A	Suspensi Pembanding B	Suspensi Pembanding C	Suspensi Pembanding D
Baku opalesens	5,0 ml	10,0 ml	30,0 ml	50,0 ml
Air	95,0 ml	90,0 ml	70,0 ml	50,0 ml
Unit Turbiditas Nefelometrik (NTU)	3 NTU	6 NTU	18 NTU	30 NTU

**Tampilan Larutan  
(Turbiditas/Opalesens dan Warna)**

**Penetapan Turbiditas (Opalesens)** Catatan Penetapan turbiditas dilakukan dengan membandingkan secara visual (Prosedur A) atau menggunakan alat turbidimeter (Prosedur B). Untuk diskusi mengenai turbidimetri dapat dilihat pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>. Penilaian kejernihan menggunakan alat memberikan perbedaan yang nyata pada hasil yang tidak bergantung pada ketajaman pengamatan visual analis.

**Larutan Hidrazin Sulfat** Larutkan 1,0 g hidrazin sulfat P dalam air dan encerkan dengan air sampai 100,0 ml. Diamkan selama 4 – 6 jam.

**Larutan Heksametilentetramin** Larutkan 2,5 g heksametilentetramin P dalam 25,0 ml air dalam labu bersumbat kaca 100 ml.

**Suspensi persediaan opalesens** Tambahkan 25,0 ml Larutan Hidrazin Sulfat ke dalam Larutan Heksametilentetramin dalam labu. Campur dan diamkan selama 24 jam. Suspensi ini stabil selama 2 bulan, simpan dalam wadah kaca tanpa cacat pada permukaannya. Suspensi tidak boleh melekat pada gelas dan tercampur baik sebelum digunakan.

**Suspensi baku opalesens** Siapkan suspensi dengan mengencerkan 15,0 ml Suspensi persediaan opalesens dengan air hingga 1000,0 ml. Suspensi baku opalesens stabil selama lebih kurang 24 jam setelah disiapkan.

**Suspensi pembanding** Siapkan berdasarkan Tabel 2. Campur dan kocok sebelum digunakan. [Catatan Suspensi formazin yang distabilkan dapat digunakan untuk menstabilkan baku turbiditas encer yang dapat diperoleh secara komersial dan dapat digunakan setelah membandingkan dengan baku yang disiapkan seperti yang telah dijelaskan di atas.]

**Prosedur A Perbandingan Visual** Gunakan tabung uji yang seragam, terbuat dari kaca netral tidak berwarna, transparan dengan dasar rata, dan diameter bagian dalam 15 – 25 mm (tabung Nessler). Isi satu tabung dengan Larutan S dengan tinggi 40 mm, dengan tinggi yang sama isi satu tabung dengan air dan empat tabung lain

dengan Suspensi Pembanding A, B, C dan D. Bandingkan larutan dalam kondisi cahaya yang terang, 5 menit setelah penyiapan Suspensi Pembanding, amati secara vertikal dengan latar belakang hitam. Kondisi cahaya akan membedakan Suspensi Pembanding A dengan air dan Suspensi Pembanding B dapat dibedakan dengan Suspensi Pembanding A.

**Persyaratan Untuk penutup Tipe I Larutan S** tidak lebih opalesens dari pada Suspensi Pembanding B, dan untuk penutup Tipe II Larutan S tidak lebih opalesens dari pada Suspensi Pembanding C. Larutan S dikatakan bersih jika kejernihannya sama seperti air ketika diuji seperti dijelaskan di atas atau jika opalesensnya tidak lebih nyata dari pada Suspensi Pembanding A (lihat Tabel 3).

**Prosedur B Menggunakan Alat Ukur turbiditas Suspensi Pembanding** dalam turbidimeter terkalibrasi yang sesuai seperti pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>. Blangko harus diukur dan hasil pengukuran dikoreksi terhadap blangko. Suspensi Pembanding A, B, C dan D berturut-turut mewakili 3, 6, 18 dan 30 NTU. Ukur turbiditas Larutan S menggunakan turbidimetri terkalibrasi.

**Persyaratan Untuk penutup Tipe I turbiditas Larutan S** tidak lebih besar dari pada Suspensi Pembanding B (6 NTU) dan untuk penutup Tipe II Larutan S tidak lebih besar daripada Suspensi Pembanding C (18 NTU).

Tabel 3

Persyaratan opalesens	Perbandingan Metode	
	Prosedur A (Visual)	Prosedur B (Alat)
Penutup Tipe I	tidak lebih opalesen dari Suspensi Pembanding B	tidak lebih dari 6 NTU
Penutup Tipe II	tidak lebih opalesen dari Suspensi Pembanding C	tidak lebih dari 18 NTU

### Penetapan Warna

*Baku Warna* Siapkan larutan dengan mengencerkan 3,0 ml *Larutan Padanan O* seperti pada *Warna dan Akromisitas <1291>* dengan 97,0 ml *asam hidroklorida encer LP*.

*Prosedur* Gunakan tabung uji yang seragam, terbuat dari kaca netral, tidak berwarna, transparan dengan dasar rata, dan diameter bagian dalam 15 – 25 mm (tabung Nessler). Isi satu tabung dengan *Larutan S* dengan tinggi 40 mm, satu tabung kedua dengan *Baku Warna*. Bandingkan larutan pada kondisi terang, 5 menit setelah penyiapan *Larutan padanan*, amati secara vertikal dengan latar belakang putih.

*Persyaratan Larutan S* berwarna tidak lebih intens dari pada *Baku Warna*.

### Keasaman dan Kebasaan

*Larutan Biru Bromtimol* Larutkan 50 mg *biru bromtimol P* dalam campuran 4 ml *natrium hidroksida 0,02 M* dan 20 ml *etanol P*. Encerkan dengan air sampai 100 ml.

*Prosedur* Pada 20 ml *Larutan S* tambahkan 0,1 ml *Larutan Biru Bromtimol*. Jika larutan berwarna kuning, titrasi dengan *natrium hidroksida 0,01 N* sampai dicapai titik akhir biru. Jika larutan berwarna biru, titrasi dengan *asam klorida 0,01 N* sampai dicapai titik akhir kuning. Jika larutan berwarna hijau, bersifat netral maka tidak perlu dititrasi.

*Koreksi Blangko Uji* 20 ml blangko yang sama. Koreksi hasil yang diperoleh untuk *Larutan S* dengan mengurangi atau menambah volume titran untuk *Blangko* seperti tertera pada *Titrimetri <711>*.

*Persyaratan* Untuk pembentukan warna biru diperlukan tidak lebih dari 0,3 ml larutan *natrium hidroksida 0,01 N*, atau untuk pembentukan warna kuning diperlukan tidak lebih dari 0,8 ml larutan *asam klorida 0,01 N*, atau tidak perlu dititrasi.

### Serapan

*Prosedur [Catatan Lakukan uji ini dalam waktu 5 jam setelah penyiapan Larutan S.]* Saring *Larutan S* melalui membran dengan porositas 0,45 µm, buang beberapa ml filtrat pertama. Ukur serapan filtrat pada panjang gelombang antara 220 dan 360 nm dalam kuvet 1 cm menggunakan blangko. Jika diperlukan pengenceran filtrat sebelum pengukuran serapan, maka hasil uji perlu dikoreksi.

*Persyaratan* Untuk penutup Tipe I serapan tidak lebih dari 0,2 dan untuk penutup Tipe II serapan tidak lebih dari 4,0.

### Zat Tereduksi

*Prosedur [Catatan Lakukan uji ini dalam waktu 4 jam setelah penyiapan Larutan S.]* Pada 20,0 ml *Larutan S* tambahkan 1 ml *asam sulfat encer LP* dan 20,0 ml *kalium permanganat 0,002 M*. Didihkan selama 3 menit. Dinginkan, tambahkan 1 g *kalium iodida P*, dan titrasi segera dengan *natrium tiosulfat 0,01 M LV*, menggunakan 0,25 ml *amilum LP* sebagai indikator.

Lakukan titrasi menggunakan 20,0 ml blangko dan catat perbedaan volume natrium tiosulfat yang diperlukan.

*Persyaratan* Untuk penutup Tipe I perbedaan antara volume titrasi tidak lebih dari 3,0 ml dan untuk penutup Tipe II tidak lebih dari 7,0 ml.

### Logam Berat

*Prosedur* Lakukan pengujian seperti tertera pada *Metode I dalam Logam Berat <371>* Siapkan *larutan uji* menggunakan 10,0 ml *Larutan S*.

*Persyaratan Larutan S* mengandung logam berat tidak lebih dari 2 bpj dihitung sebagai Pb.

### Zink terekstraksi

*Larutan Uji* Pipet 10 ml *Larutan S* ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *asam klorida 0,1 N* sampai tanda. Siapkan blangko uji dengan cara yang sama menggunakan *Blangko* untuk *Larutan S*.

*Larutan Baku* Larutkan *zink sulfat P* dalam *asam klorida 0,1 N* hingga kadar zink lebih kurang 10 bpj.

*Larutan Pembanding* Siapkan tidak kurang dari 3 larutan pembanding dengan mengencerkan *Larutan Baku* dalam *asam klorida 0,1 N*. Kadar zink dalam *Larutan Pembanding* berada dalam rentang batas yang diperkirakan dari *Larutan Uji*.

*Prosedur* Gunakan spektrofotometer serapan atom seperti pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>* yang dilengkapi dengan lampu "hollow cathode" zink dan nyala asetilen-udara. *Prosedur alternatif* yang dapat digunakan adalah analisis *Inductively Couple Plasma (ICP)* yang sudah divalidasi.

Uji tiap *Larutan Pembanding* pada garis emisi zink 213,9 nm minimal tiga kali. Catat pembacaan secara terus menerus. Bilas peralatan dengan larutan blangko uji setiap kali uji, untuk memastikan pembacaan kembali ke nilai blangko awal. Buat kurva kalibrasi dari rata-rata angka pembacaan untuk setiap *Larutan Pembanding*. Catat serapan *Larutan Uji*. Tetapkan kadar zink dalam bpj dari *Larutan Uji* menggunakan kurva kalibrasi.

*Persyaratan Larutan S* mengandung zink terekstraksi tidak lebih dari 5 bpj.

### Amonium

*Larutan Kalium Tetraiodomerkurat Alkalis* Larutkan 11 g *kalium iodida P* dan 15 g *raksa(II) iodida P* dalam air hingga 100 ml. Segera sebelum digunakan, campur volume sama larutan ini dengan larutan natrium hidroksida 250 g per liter.

*Larutan Uji* Encerkan 5 ml *Larutan S* dengan air sampai 14 ml. Basakan jika perlu dengan menambahkan *natrium hidroksida 1 N* dan encerkan dengan air sampai 15 ml. Tambahkan 0,3 ml *Larutan Kalium Tetraiodomerkurat Alkalis* kemudian tutup wadah.

*Larutan Baku* Buat larutan *amonium klorida P* dalam air hingga kadar  $\text{NH}_4$  1 bpj. Campur 10 ml larutan 1 bpj *amonium klorida* dengan 5 ml air dan 0,3 ml *Larutan Kalium Tetraiodomerkurat alkalis* kemudian tutup wadah.

*Persyaratan* Setelah 5 menit, warna kuning dari *Larutan Uji* tidak lebih gelap dari *Larutan Baku Amonium* (tidak lebih dari 2 bpj  $\text{NH}_4$  dalam *Larutan S*).

#### **Sulfida mudah menguap**

*Prosedur* Masukkan penutup jika perlu dipotong-potong, dengan luas area permukaan total  $20 \pm 2 \text{ cm}^2$  ke dalam labu 100 ml dan tambahkan 50 ml larutan *asam sitrat P 2%*. Dalam waktu dan cara yang sama siapkan larutan pembanding dalam labu tentukur 100-ml terpisah dengan melarutkan 0,154 mg *natrium sulfida P* dalam 50 ml larutan *asam sitrat P 2%*. Letakkan sepotong *kertas timbal(II) asetat P* di atas mulut tiap labu dan pertahankan kertas dalam posisi tersebut dengan meletakkan botol timbang yang dibalik di atasnya. Panaskan labu dalam otoklaf pada suhu  $121^\circ \pm 2^\circ$  selama 30 menit.

*Persyaratan* Bercak hitam pada kertas yang dihasilkan oleh *Larutan S* tidak lebih intens dari pada bercak hitam yang dihasilkan oleh larutan pembanding.

#### **Uji Fungsi**

Perlakuan sampel seperti pada penyiapan *Larutan S* dan udara kering sebaiknya digunakan untuk *Uji Fungsi* dari *Daya Tembus*, *Fragmentasi* dan kapasitas menutup sendiri (*Self-Sealing*). Uji Fungsi dilakukan pada penutup yang akan ditusuk dengan jarum hipodermik. Uji kapasitas "*Self-Sealing*", diperlukan hanya untuk penutup wadah sediaan dosis ganda. Jarum yang dikhususkan untuk setiap uji adalah jarum hipodermik panjang diberi pelincir, dengan sudut kemiringan  $12^\circ \pm 2^\circ$ .

#### **Daya Tembus**

*Prosedur* Isi 10 vial yang sesuai dengan sejumlah air dengan volume tertentu, pasang penutup yang diuji, dan perkuat dengan tutup luar. Gunakan jarum hipodermik baru untuk setiap penutup, tusuk penutup dengan jarum tegak lurus ke permukaan.

*Persyaratan* Kekuatan untuk menusuk tidak lebih dari 10 N (1kgf) untuk setiap tutup, tetapkan dengan ketelitian  $\pm 0,25 \text{ N}$  (25 gf).

#### **Fragmentasi**

*Penutup untuk Sediaan Cair* Isi 12 vial bersih dengan sejumlah air dengan volume 4 ml kurang dari volume nominal. Pasang penutup yang diuji, dan perkuat dengan tutup luar, biarkan selama 16 jam.

*Penutup untuk Sediaan Kering* Pasang penutup yang diuji pada 12 vial bersih dan perkuat dengan tutup luar.

*Prosedur* Gunakan jarum hipodermik pada siring bersih, suntikkan ke dalam tiap vial 1 ml air sambil memindahkan 1 ml udara. Ulangi prosedur ini sebanyak empat kali untuk tiap penutup, setiap penusukkan dilakukan pada tempat yang berbeda. Gunakan jarum baru untuk tiap penutup, pastikan tidak ada yang tumpul selama uji. Saring volume total yang ada dalam semua vial, melalui satu filter dengan porositas tidak lebih dari  $0,5 \mu\text{m}$ . Hitung fragmen (kepingan) karet di permukaan filter yang dapat dilihat oleh mata.

*Persyaratan* Tidak boleh terlihat lebih dari 5 fragmen. Batasan ini berdasarkan asumsi bahwa fragmen dengan diameter  $>50 \mu\text{m}$  akan terlihat oleh mata. Jika timbul keraguan atau perbedaan maka partikel diuji secara mikroskopis untuk memverifikasi sifat dan ukurannya.

#### **Kapasitas Menutup Sendiri (*Self-Sealing*)**

*Prosedur* Isi 10 vial dengan air hingga volume nominal. Pasang penutup yang akan diuji, dan perkuat dengan tutup luar. Gunakan jarum hipodermik baru untuk tiap penutup, tusuk tiap penutup masing-masing 10 kali, setiap penusukkan dilakukan pada tempat yang berbeda. Rendam 10 vial tersebut dalam larutan *biru metilen P 0,1%*, dan kurangi tekanan luar sampai 27 kPa selama 10 menit. Kembalikan pada tekanan atmosfer, dan biarkan vial terendam selama 30 menit. Bilas bagian luar vial.

*Persyaratan* Tidak satupun vial mengandung sisa larutan biru metilen.

### **UJI BAHAN TAMBAHAN DALAM VAKSIN DAN IMUNOSERUM <731>**

**Fenol** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, vaksin dan imunoserum yang mengandung fenol sebagai pengawet tidak lebih dari 0,25% bila ditetapkan dengan cara sebagai berikut. Kocok homogen, ukur saksama sejumlah zat uji, encerkan dengan air hingga larutan mengandung fenol lebih kurang 0,0015%. Ke dalam 5 ml larutan tambahkan masing-masing 5 ml *Dapar borat pH 9,0*, larutan *4-aminofenazon P 0,1%* dan larutan *kalium heksa sianoferat(III) P 5%*. Biarkan larutan selama 10 menit dan ukur serapan pada 546 nm. Hitung kadar fenol dalam zat uji, menggunakan kurva kalibrasi yang diperoleh dengan cara yang sama dari 5 ml larutan baku fenol yang masing-masing mengandung 0,0005%; 0,0010%; 0,0015; 0,0020% dan 0,0030%.

**Formaldehida bebas** Tidak lebih dari 0,02% jika ditetapkan dengan cara sebagai berikut [*Catatan Jika metabisulfid digunakan untuk menetralkan kelebihan formaldehida, metode ini tidak dapat digunakan.*] Encerkan sediaan uji 10 kali dengan air, ambil 1 ml tambahkan 4 ml air dan 5 ml *asetilaseton LP*. Hangatkan dalam tangas air pada suhu  $40^\circ$  selama 40 menit. Warna yang terjadi tidak lebih kuat dari warna larutan pembanding yang dibuat dengan cara dan dalam waktu yang sama, menggunakan 1 ml larutan yang mengandung *formaldehida P*,  $\text{CH}_2\text{O}$ , 0,002% sebagai pengganti larutan uji. Pada saat membandingkan, amati tabung dalam posisi vertikal dari atas.

**Aluminium** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, vaksin jerap mengandung aluminium tidak lebih dari 1,25 mg per dosis bila ditetapkan dengan cara sebagai berikut. Kocok homogen sediaan uji, pindahkan sejumlah sediaan mengandung 5 - 6 mg

aluminium ke dalam labu destruksi 50 ml. Tambahkan 1 ml *asam sulfat P*, 0,3 ml *asam nitrat P* dan sejumlah batu didih. Panaskan larutan hingga terbentuk asap berwarna putih. Bila terjadi pengarangan, tambahkan beberapa tetes *asam nitrat P* dan lanjutkan pendidihan hingga pengarangan hilang. Biarkan dingin selama beberapa menit, tambahkan hati-hati 10 ml air dan didihkan hingga larutan jernih. Biarkan dingin, tambahkan 0,1 ml *jingga metil LP* dan netralkan dengan *natrium hidroksida 10 N* (lebih kurang 6,5 - 7,0 ml). Bila terbentuk endapan, larutkan endapan dengan penambahan *asam sulfat 1 M* tetes demi tetes. Pindahkan larutan ke dalam labu, bilas labu destruksi dengan 25 ml air. Tambahkan 25 ml *dinatrium edetat 0,02 M LV*, 10 ml *dapar asetat pH 4,4* dan beberapa batu didih. Didihkan perlahan-lahan selama 3 menit. Tambahkan 0,25 ml larutan *piridilazonaftol P* dan titrasi kelebihan dinatrium edetat dalam keadaan panas dengan *tembaga(II) sulfat 0,02 M LV* hingga warna berubah menjadi cokelat keunguan. Lakukan penetapan blangko. Perbedaan volume titran menunjukkan volume *dinatrium edetat 0,02 M* setara dengan jumlah aluminium.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,02 M*  
setara dengan 0,5396 mg Al

**Kalsium** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, vaksin jerap mengandung kalsium tidak lebih dari 1,3 mg per dosis bila ditetapkan dengan cara berikut. Kocok homogen sediaan uji, ambil 1,0 ml tambahkan 0,2 ml *asam klorida P* dan encerkan dengan air hingga 3,0 ml. Tetapkan kadar kalsium dengan *Spektrofotometri Emisi Atom* seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>* pada 620 nm menggunakan *Larutan baku kalsium*, jika perlu encerkan dengan air.

### ANALISIS TERMAL <741>

Penetapan secara tepat peristiwa termodinamik, seperti perubahan keadaan, dapat menunjukkan identitas dan kemurnian suatu obat. Farmakope telah menetapkan pengujian terhadap suhu lebur atau suhu didih suatu senyawa. Perubahan terjadi pada suhu yang karakteristik, oleh karena itu farmakope menetapkannya sebagai suatu identifikasi senyawa. Efek cemar terhadap perubahan ini dapat diramalkan, farmakope yang sama memberikan kontribusi pada pengujian ini untuk pengawasan kemurnian senyawa.

Analisis termal dalam pengertian luas adalah pengukuran sifat kimia-fisika bahan sebagai fungsi suhu. Metode instrumen sebagian besar telah menggantikan metode lama yang tergantung pada pemeriksaan visual dan pengukuran dengan kondisi tertentu atau berubah-ubah, sebab penetapannya menjadi lebih objektif, lebih memberikan banyak informasi, memungkinkan pencatatan tetap dan umumnya lebih sensitif, lebih teliti dan lebih tepat.

Selanjutnya penetapan dapat memberikan informasi pada kesempurnaan hablur, polimorfisma, suhu lebur, sublimasi, transisi kaca, dehidrasi, penguapan, pirolisis, interaksi padat-padat dan kemurnian. Data semacam itu berguna untuk karakterisasi senyawa dengan memandang kesesuaian, stabilitas, kemasan dan pengawasan kualitas. Pengukuran yang sering digunakan dalam analisis termal yaitu: suhu transisi dan suhu lebur menggunakan *differential scanning calorimetri (DSC)*, analisis termogravimetri, *hot-stage microscopy* dan *eutectic impurity analysis* akan diuraikan disini.

### SUHU TRANSISI DAN TITIK LEBUR

Jika suatu contoh dipanaskan, timbulnya panas dapat diukur [*differential scanning calorimetri (DSC)*] atau perbedaan suhu yang diakibatkan dapat diukur terhadap pembanding inert yang dipanaskan secara identik [*differential thermal analysis (DTA)*] atau diamati secara "*hot-stage microscopy*". Dalam perubahan panas secara terus menerus DSC, perbedaan antara contoh dan bahan pembanding ditetapkan. Penggantian tenaga/daya DSC, contoh dan bahan pembanding diatur pada suhu sama, menggunakan elemen pemanas individu dan perbedaan dalam masukan tenaga/daya pada kedua pemanas direkam. Monitor/rekam DTA perbedaan suhu antara contoh dan pembanding. Transisi dapat diamati termasuk yang tertera pada *Tabel 1* di bawah. Pada kasus titik lebur kedua suhu "permulaan" dan "puncak" dapat ditetapkan secara obyektif dan reproduibilitasnya baik, sering hingga persepuluh derajat. Meskipun suhu ini berguna untuk karakterisasi senyawa dan perbedaan dua suhu menunjukkan kemurnian, nilai tersebut tidak dapat dibandingkan langsung secara visual sebagai "jarak lebur" atau "suhu lebur" atau dengan konstanta seperti "titik tripel" bahan murni.

Selanjutnya, peringatan harus digunakan ketika membandingkan hasil yang diperoleh oleh perbedaan metode analisis. Metode optik dapat mengukur titik lebur sebagai suhu dimana tidak terlihat padatan. Perbedaan, titik lebur yang diukur secara DSC dapat menunjukkan permulaan suhu atau suhu dimana kecepatan melebur maksimum (puncak) diamati. Walaupun demikian, puncak sensitif terhadap bobot contoh, kecepatan panas dan faktor lain, mengingat suhu awal kurang dipengaruhi oleh faktor ini. Dengan teknik termal perlu untuk dipertimbangkan pembatasan bentuk padat dan cair, ketaklarutan dalam leburan, polimorfi dan dekomposisi selama analisa.

Tabel 1

	Melebur	Endotermis
Cair ke gas	Menguap	Endotermis
Cair ke padat	Pembekuan	Eksotermis
	Penghabluran	Eksotermis
Padat ke gas	Sublimasi	Endotermis
Padat ke padat	Transisi kaca	Kejadian orde kedua
	Desolvasi	Endotermis
	Amorf ke hablur	Eksotermis
	Polimorfi	Endotermis atau Eksotermis

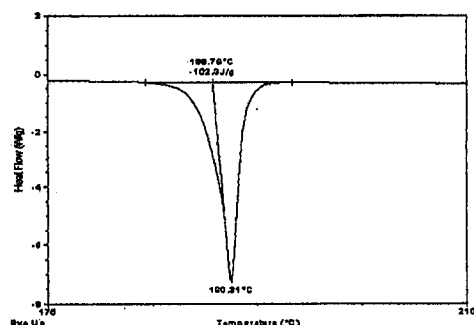
Hasil Pelaporan Metode Instrumentasi Deskripsi lengkap kondisi penggunaan harus disertakan tiap termogram, termasuk model instrumen/alat dan tahun pembuatan; rekaman kalibrasi terakhir; ukuran contoh dan identifikasi (termasuk riwayat termal sebelumnya; wadah; identitas, laju alir dan tekanan gas atmosfer; petunjuk dan perubahan kecepatan suhu; kepekaan alat dan rekorder).

### PENETAPAN SUHU TRANSISI (SUHU AWAL PELEBURAN) DAN SUHU TITIK LEBUR

Alat Jika tidak dinyatakan lain dalam monografi, gunakan DTA atau DSC yang dilengkapi dengan alat pemogram suhu, detektor termal dan sistem perekam yang dapat dihubungkan dengan komputer.

**Kalibrasi** Kalibrasi instrumen untuk perubahan suhu dan "entalpi" menggunakan indium atau bahan lain yang bersertifikat. Suhu kalibrasi dilakukan dengan pemanasan standar melalui transisi melebur dan perbandingan ekstrapolasi titik lebur permulaan baku pada sertifikat titik lebur permulaan. Suhu lebur kalibrasi harus dilakukan pada kecepatan pemanasan sama sebagai percobaan/eksperimen. Kalibrasi entalpi dilakukan dengan pemanasan baku melalui transisi lebur dan dibandingkan perhitungan panas peleburan pada nilai teoritis.

**Prosedur** Timbang saksama sejumlah yang cocok senyawa yang akan diuji dalam wadah contoh, seperti tertera pada monografi. Atur pada suhu awal, kecepatan pemanasan, arah perubahan suhu dan suhu akhir seperti tertera dalam monografi. Jika tidak tercantum dalam monografi, parameter ditetapkan sebagai berikut: dibuat pengujian pendahuluan dengan rentang lebar (khusus suhu ruang hingga suhu peruraian atau lebih kurang  $10^{\circ}$  -  $20^{\circ}$  diatas titik lebur) dan laju pemanasan yang lebar ( $1^{\circ}$  -  $20^{\circ}$  per menit) untuk menunjukkan adanya efek yang tidak lazim. Kemudian tetapkan kecepatan pada pemanasan yang lebih rendah sehingga peruraian diminimalkan dan suhu transisi tidak disetujui. Tetapkan dalam rentang suhu transisi dengan menarik garis dasar di perpanjang hingga memotong tangen leburan (lihat Gambar 1).



Gambar 1. Termogram

Pada pengujian bahan hablur murni, laju pemanasan  $1^{\circ}$  per menit mungkin cukup, sedangkan laju pemanasan mulai hingga laju pemanasan mulai hingga  $20^{\circ}$  per menit lebih sesuai untuk bahan polimer dan semi hablur. Mulai analisis dan rekam kurva *differential thermal analysis* dengan suhu pada sumbu x dan perubahan energi pada sumbu y. Suhu lebur (sumbu permulaan meleleh/lebur) adalah perpotongan ( $188,74^{\circ}$ ) dari perluasan garis dasar dengan tangen pada titik *slope* (lereng) terbesar (titik infleksi/perubahan) dari kurva (lihat Gambar 1). Puncak adalah suhu pada puncak kurva ( $190,31^{\circ}$ ). Entalpi dari kejadian adalah proporsional pada area di bawah kurva setelah penggunaan koreksi garis dasar.

### ANALISIS TERMOGRAFI

Analisis termogravimetri mencakup penetapan massa contoh sebagai fungsi suhu, atau lamanya pemanasan, atau keduanya, dan jika dilakukan dengan baik dan benar, akan memberikan informasi lebih banyak dibandingkan dengan susut pengeringan pada suhu tetap, sering untuk waktu yang ditentukan dan biasanya didalam lingkungan yang tak diatur dengan baik. Biasanya, kehilangan pelarut yang terserap pada permukaan dapat dibedakan dari pelarut dalam kisi-kisi hablur dan dari kehilangan akibat degradasi. Pengukuran dapat dilakukan dalam lingkungan dengan kelembaban dan kadar oksigen yang dapat diatur untuk menyatakan adanya interaksi dengan senyawa obat, antara senyawa obat dan antara bahan aktif dan pengisi atau bahan pengemas.

Alat Rincian tergantung pada pabrik, ciri-ciri penting dari alat adalah rekaman penimbangan dan sumber panas dapat diprogram. Peralatan berbeda dalam kemampuan menangani contoh berbagai ukuran, rata-rata suhu sensor dan rentang kontrol atmosfer.

**Kalibrasi** Kalibrasi diperlukan dengan seluruh sistem: adalah, skala massa dikalibrasi dengan bobot baku, dan kalibrasi skala suhu termasuk penggunaan bahan pembanding, sebab itu diterima suhu contoh adalah suhu tanur. Kalibrasi bobot dilakukan dengan mengukur massa dari sertifikat atau bobot pembanding dan membandingkan massa yang diukur dengan nilai sertifikat. Kalibrasi suhu dilakukan dengan menganalisa pembanding magnetik kemurnian tinggi seperti nikel untuk suhu "curie" dan bandingkan nilai yang terukur terhadap nilai teoritis.

**Prosedur** Gunakan metode pada contoh, menggunakan kondisi seperti tertera dalam monografi, dan hitung massa yang bertambah atau hilang, dinyatakan dalam prosentase perubahan massa. Sebagai alternatif, tempatkan sejumlah yang cocok bahan dalam pemegang contoh, dan rekam massa. Sebab lingkungan uji kritis, tekanan atau kecepatan/laju alir dan komposisi gas ditentukan. Atur suhu awal, kecepatan pemanasan dan suhu akhir, tergantung pada instruksi pabrik dan



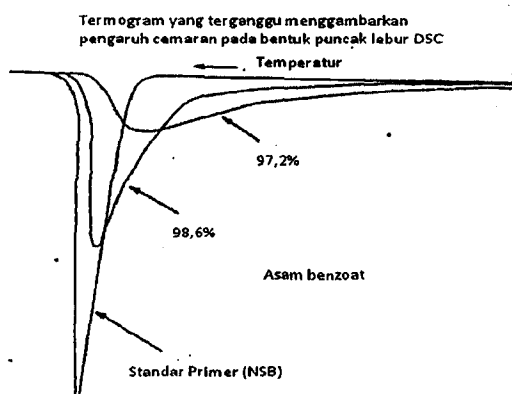
kenaikan suhu awal. Sebagai alternatif, lakukan pengujian termogram di atas suhu rentang lebar (khusus, dari suhu ruang hingga suhu peruraian, atau 10° hingga 20° per menit). Hitung massa yang bertambah atau hilang, dinyatakan dalam presentase perubahan massa.

**“HOT-STAGE MICROSCOPY”**

“Hot-Stage Microscopy” adalah teknik analitik menyangkut monitoring sifat optik contoh menggunakan mikroskop sebagai fungsi suhu. “Hot-stage microscopy” dapat digunakan sebagai teknik melengkapi teknik analisis termal lainnya seperti DSC, DTA atau variabel suhu difraksi sinar-X serbuk untuk karakteristik keadaan padat senyawa farmasetik. Sangat bermanfaat untuk menegaskan transisi seperti sebagai meleleh/melebur, pengabluran kembali, dan transformasi keadaan padat menggunakan teknik visual. “hot-stage microscopy” harus dikalibrasi untuk suhu.

**ANALISIS CEMARAN EUTEKTIK**

Prinsip dari metode kemurnian secara kalorimetri adalah adanya hubungan antara penurunan suhu lebur dan suhu beku, dengan tingkat cemaran. Leburnya suatu senyawa ditandai dengan penyerapan panas peleburan laten  $\Delta H_f$  pada suhu spesifik,  $T_o$ . Secara teoritis, transisi peleburan untuk senyawa hablur murni mutlak akan terjadi dalam rentang yang sangat sempit. Pelebaran jarak lebur, yang disebabkan cemaran, memberikan kriteria kemurnian yang peka. Efek itu nyata secara visual dengan mengamati termogram contoh yang berbeda beberapa per sepuluh persen dalam kandungan cemaran. Bahan dengan kemurnian 99%, meleleh lebih kurang 20% pada suhu 3° di bawah titik lebur bahan murni (lihat gambar yang disertakan).



Parameter peleburan (jarak lebur,  $\Delta H_f$  dan kemurnian eutektik yang dihitung) diperoleh dari termogram suatu peristiwa melebur tunggal menggunakan contoh uji

dalam jumlah kecil, dan metode ini tidak memerlukan pengulangan pengukuran suhu sebenarnya yang tepat. Unit termogram langsung dapat diubah menjadi pemindahan panas, mili kalori per detik. Penurunan titik beku dalam larutan encer oleh molekul berukuran hampir sama dinyatakan dalam persamaan Van't Hoff yang dimodifikasi:

$$\frac{dT}{dX_2} = \frac{RT^2}{\Delta H_f} (K_D - 1) \tag{1}$$

$T$  = suhu mutlak dalam derajat Kelvin (°K),  $X_2$  = fraksi mol dari komponen minor (zat terlarut; cemaran);  $\Delta H_f$  = panas peleburan molar komponen utama;  $R$  = konstanta gas;  $K$  = rasio distribusi zat terlarut dalam fase padat dan cair.

Dengan anggapan bahwa rentang suhu adalah sempit dan tidak ada larutan padatan yang terbentuk ( $K_D = 0$ ), integrasi persamaan Van't Hoff menghasilkan hubungan antara fraksi mol dari cemaran dan penurunan suhu lebur berikut ini:

$$X_2 = \frac{(T_o - T_m)\Delta H_f}{RT_o^2} \tag{2}$$

$T_o$  = suhu lebur senyawa murni dalam °K, dan  $T_m$  = suhu lebur contoh yang uji dalam °K.

Dengan tidak adanya pembentukan larutan fase padat, kadar cemaran dalam fase cair pada suatu suhu selama peleburan berbanding terbalik dengan fraksi yang melebur pada suhu tersebut dan penurunan suhu lebur berbanding lurus dengan fraksi mol cemaran. Gambar hubungan suhu contoh uji yang diamati,  $T_s$ , terhadap kebalikan fraksi yang melebur,  $1/F$ , pada suhu  $T_s$ , akan menghasilkan garis lurus dengan kemiringan yang sama dengan penurunan suhu lebur ( $T_o - T_m$ ). Suhu lebur senyawa murni secara teoritis diperoleh dengan ekstrapolasi pada  $1/F = 0$ ;

$$T_s = T_o - \frac{RT_o^2 X_2 (1/F)}{\Delta H_f} \tag{3}$$

Penggantian harga  $T_o - T_m$ ;  $\Delta H_f$  dan  $T_o$  hasil percobaan dalam persamaan 2 menghasilkan fraksi mol dari jumlah cemaran eutektik, yang bila dikalikan 100 memberikan persentase mol jumlah cemaran eutektik. Penyimpangan dari kurva linier teoritis disebabkan karena pembentukan larutan padat ( $K_D \neq 0$ ), sehingga harus berhati-hati dalam menginterpretasi data. Untuk mengamati efek linier kadar cemaran terhadap penurunan suhu lebur, cemaran harus larut dalam fase cair atau leburan senyawa tetapi tidak larut dalam fase padatan, artinya tidak terbentuk larutan fase padat. Untuk dapat larut dalam leburan diperlukan beberapa kesamaan kimiawi. Sebagai contoh, adanya senyawa ionik dalam senyawa organik netral dan adanya peruraian termal mungkin tidak tercermin dalam

perkiraan kemurnian. Pembatasan teori baru hanya sebagian yang telah diteliti.

Cemaran yang berasal dari jalur sintesis sering mirip dengan produk akhir, sebab itu biasanya tidak merupakan masalah kelarutan dalam leburan. Cemaran dengan molekul-molekul yang sama bentuknya, ukuran dan sifat-sifatnya seperti komponen utama dapat pas ke dalam matriks komponen utama tanpa gangguan dari kisi-kisi, pembentukan larutan padatan atau inklusi; cemaran seperti itu tidak terdeteksi oleh DSC. Perkiraan kemurnian dapat terlalu tinggi dalam kasus seperti itu. Hal ini lebih umum pada hablur yang kurang teratur seperti yang ditunjukkan oleh panas peleburan yang rendah.

Tingkat cemaran yang dihitung dari termogram adalah berulang dan keandalannya mungkin dalam batas 0,1% untuk senyawa ideal. Penetapan suhu lebur dengan "Scanning calorimetry" memiliki reproduibilitas dengan simpangan baku lebih kurang 0,2°. Kalibrasi terhadap baku dapat memberikan akurasi lebih kurang 1° untuk suhu lebur, sehingga teknik ini dapat dibandingkan terhadap prosedur lain.

Senyawa dalam bentuk polimorf tidak dapat digunakan dalam penetapan kemurnian kecuali senyawa diubah seluruhnya menjadi satu bentuk. Sebaliknya DSC dan DTA selalu berguna untuk deteksi, oleh karena itu juga dapat digunakan untuk pemantauan polimorfisma.

**Prosedur** Prosedur aktual dan perhitungan yang digunakan tergantung pada instrumen yang digunakan. Lihat pustaka pabrik dan atau pustaka analisis termal untuk mendapatkan teknik yang tepat untuk alat tertentu. Perlu diperhatikan keterbatasan yang berasal dari pembentukan larutan padatan, ketaklarutan dalam leburan, polimorfisma dan peruraian selama analisis.

## **BAHAN PARTIKULAT DALAM INJEKSI <751>**

Bahan partikulat berupa zat asing yang bergerak dan asalnya tidak tentu, kecuali gelembung gas, yang tidak dapat dikuantitasi dengan analisis kimia karena jumlah materinya yang kecil dan komposisi yang heterogen. Larutan injeksi, termasuk larutan yang dikonstitusikan dari zat padat steril untuk penggunaan parenteral, harus bebas dari partikel yang dapat diamati pada pemeriksaan secara visual. Pengujian yang disebutkan di sini adalah uji fisika yang bertujuan menghitung partikel asing subvisibel dalam rentang ukuran tertentu.

Prosedur mikroskopik dan pengaburan cahaya untuk penetapan bahan partikulat diuraikan di sini. Bab ini memberikan pendekatan pengujian dua tahap. Larutan injeksi mula-mula diuji dengan prosedur pengaburan cahaya (tahap 1). Jika tidak memenuhi batas yang ditetapkan, larutan uji harus memenuhi prosedur mikroskopik (tahap 2) dengan batas-batas tersendiri. Jika larutan uji, karena alasan teknis, tidak dapat diuji secara pengaburan cahaya, dapat digunakan pengujian mikroskopik saja. Dalam tiap kasus diperlukan dokumentasi yang menunjukkan bahwa prosedur pengaburan cahaya tidak mampu menguji larutan injeksi,

atau memberikan hasil yang tidak absah. Diharapkan bahwa sebagian besar sediaan akan memenuhi persyaratan atas dasar uji pengaburan cahaya saja, tetapi mungkin juga sediaan tertentu memerlukan pengujian dengan uji pengaburan cahaya yang diikuti dengan uji mikroskopik untuk memastikan kesesuaian terhadap persyaratan.

Semua injeksi volume besar untuk infus dosis tunggal dan injeksi volume kecil yang monografinya menetapkan persyaratan, harus memenuhi batas bahan partikulat seperti tertera pada uji yang digunakan, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi. Injeksi yang dimaksudkan hanya untuk penggunaan intramuskular dan subkutan dikecualikan dari persyaratan pada bab ini.

Tidak semua formulasi injeksi dapat diamati partikelnya dengan salah satu atau kedua cara pengujian tersebut. Tiap produk yang bukan larutan sempurna, yang kejernihannya dan viskositasnya menyerupai air, dapat menghasilkan data yang menyimpang pada pemeriksaan dengan metode penghitungan pengaburan cahaya. Bahan demikian dapat diperiksa dengan metode mikroskopik. Contoh, emulsi, koloid, dan sediaan liposom. Demikian pula, produk yang menghasilkan udara atau gelembung gas jika dimasukkan ke dalam sensor, misalnya formula dapar bikarbonat, juga memerlukan pengujian mikroskopik. Jika terjadi keraguan pada penerapan metode pengujian, sebagai acuan digunakan metode yang tertera pada masing-masing monografi. Batas yang lebih tinggi sesuai untuk sediaan tertentu dan akan diuraikan dalam masing-masing monografi.

Pada beberapa keadaan, viskositas bahan uji mungkin cukup tinggi, sehingga menghalangi pemeriksaan dengan kedua metode pengujian. Dalam hal ini dapat dibuat pengenceran kuantitatif seperlunya dengan pengencer yang sesuai untuk menurunkan viskositas, sehingga pemeriksaan dapat dilakukan.

Pada uji yang diuraikan di bawah ini, untuk injeksi volume besar dan injeksi volume kecil, hasil yang diperoleh dari pengamatan unit tersendiri atau kelompok unit terhadap bahan partikulat, tidak dapat diekstrapolasikan dengan pasti pada unit lain yang tidak diuji.

Rancangan pengambilan sampel yang memenuhi syarat secara statistik berdasarkan sejumlah faktor operasional yang diketahui, harus dikembangkan jika akan ditarik kesimpulan yang absah dari data yang teramati untuk menentukan tingkat bahan partikulat pada sekelompok besar unit. Rancangan pengambilan sampel harus didasarkan atas pertimbangan volume produk, banyaknya partikel yang secara historis ditemukan dibandingkan dengan batas yang ditentukan, distribusi ukuran partikel-partikel yang ada dan variabilitas banyaknya partikel antar unit.

## **UJI HITUNG PARTIKEL SECARA PENGABURAN CAHAYA**

### *Baku Pembanding FI - Hitung Partikel BPF1*

Uji ini dapat digunakan untuk injeksi volume besar yang menurut etiket berisi lebih dari 100 ml, kecuali

dinyatakan lain pada masing-masing monografi. Pada uji ini dihitung partikel tersuspensi, padat ataupun cair. Uji ini juga dapat digunakan untuk injeksi volume kecil dosis tunggal atau dosis ganda yang menurut etiket berisi 100 ml atau kurang, dalam larutan atau dalam larutan yang dikonstitusikan dari zat padat steril, jika uji bahan partikulat dipersyaratkan pada masing-masing monografi. Produk yang dalam monografinya mempersyaratkan penandaan bahwa produk tersebut dapat digunakan dengan penyaringan akhir, dikecualikan dari persyaratan ini.

### Peralatan

Merupakan sistem elektronik, penghitung partikel yang ada dalam cairan, yang memanfaatkan sensor pengaburan cahaya beserta perangkat pengumpan sampel yang sesuai. Beragam alat sejenis ini yang sesuai dapat diperoleh secara komersial. Pelaksana pengujian bertanggung jawab untuk memastikan kesesuaian parameter operasional peralatan dengan akurasi dan presisi hasil uji yang diperlukan dan untuk memberikan pelatihan yang memadai kepada pelaksana teknis pengujian.

Perlu dicatat tujuan akhir pada uji farmakope, bahwa penghitung partikel mampu menilai ukuran dan menghitung jumlah partikel dalam larutan injeksi yang diuji secara reproduibel. Peralatan yang tersedia berkisar dari sistem yang menggunakan kalibrasi dan pembakuan secara manual, hingga sistem canggih yang menggabungkan perangkat keras dan perangkat lunak untuk prosedur pembakuan. Jadi, tidak mungkin menetapkan metode yang pasti untuk standarisasi alat, perlu ditekankan bahwa hasil akhir lebih diperlukan pada prosedur standarisasi, dari pada metode untuk mencapai hasil tersebut. Bagian ini dimaksudkan untuk menekankan kriteria yang harus dipenuhi oleh sistem dari pada metode khusus untuk penetapannya.

Pemakai bertanggung jawab untuk menerapkan berbagai metode standarisasi yang tepat untuk alat tertentu. Kriteria operasional yang kritis terdiri dari hal berikut.

**Batas Konsentrasi Sensor** Gunakan alat dengan yang batas konsentrasi (jumlah maksimum partikel per ml), yang ditetapkan oleh pabrik, lebih besar dari konsentrasi partikel dalam bahan uji. Batas konsentrasi yang ditetapkan oleh pabrik untuk suatu sensor dinyatakan sebagai tingkat penghitungan yang menghasilkan penghitungan kebetulan akibat adanya dua atau lebih partikel dalam volume yang dicakup oleh sensor, kurang dari 10% dari jumlah partikel berukuran 10  $\mu\text{m}$  yang terhitung.

**Rentang Dinamik Sensor** Rentang dinamik alat yang digunakan (rentang ukuran partikel yang dapat diukur dan dihitung) harus mencakup ukuran partikel terkecil yang akan dihitung dalam bahan uji.

### Pembakuan Instrumen

Pembahasan berikut mengenai pembakuan instrumen menekankan pada kriteria kinerja dari pada metode

khusus untuk kalibrasi atau pembakuan sistem instrumen tertentu. Pendekatan ini tampak pada uraian kalibrasi, yang harus mempertimbangkan metode manual maupun metode yang berdasarkan perangkat keras, perangkat lunak, atau penggunaan alat uji elektronik. Kualifikasi instrumen yang sesuai sangat penting agar kinerja pengujian memenuhi persyaratan. Karena dapat digunakan instrumen dengan merk yang berbeda-beda, pemakai bertanggung jawab untuk memastikan bahwa penghitung yang digunakan beroperasi sesuai dengan petunjuk khusus dari pabriknya; prinsip yang harus diikuti untuk memastikan bahwa instrumen beroperasi dalam batas-batas yang dapat diterima ditetapkan di bawah ini.

Informasi berikut untuk pembakuan instrumen membantu memastikan bahwa akurasi volume sampel, laju aliran sampel, kurva respon ukuran partikel, resolusi sensor dan akurasi penghitungan sesuai dengan kinerja uji. Lakukan prosedur ini dengan selang waktu tidak lebih dari enam bulan.

### AKURASI VOLUME SAMPEL

Karena banyaknya partikel dalam sejumlah sampel berbanding lurus dengan volume cairan sampel, perlu diketahui bahwa akurasi pengambilan sampel ada dalam rentang tertentu. Untuk penetapan volume sampel, tetapkan volume kosong (tara) pengumpan sampel dengan air suling atau air deionisasi yang telah disaring melalui saringan dengan porositas 1,2  $\mu\text{m}$  atau lebih kecil. Pindahkan volume tertentu air suling atau air deionisasi yang telah disaring, yang lebih besar dari volume sampel ke dalam wadah, dan timbang. Ambil sejumlah volume sampel menggunakan alat yang sesuai melalui alat pengumpan sampel dan timbang lagi wadahnya. Tetapkan volume sampel dengan mengurangi volume tara dari gabungan volume sampel dan tara. Pastikan bahwa nilai yang diperoleh dalam batas 5 % dari volume sampel yang sesuai untuk pengujian. Alternatif lain, volume sampel dapat ditetapkan dengan gelas ukur kelas A yang sesuai (lihat *Peralatan Volumetrik*) [*Catatan Instrumen jenis ini memerlukan volume tara yang bervariasi. Volume tara adalah banyaknya sampel yang diambil sebelum penghitungan. Volume tersebut dapat ditetapkan untuk alat pengambil sampel yang beroperasi dengan penyemprot, dengan cara mengatur volume sampel sama dengan nol, kemudian sampel diambil sehingga volume larutan yang terambil hanyalah volume tara. Untuk menetapkan volume sampel, kurangi volume tara dari total volume larutan yang diambil pada siklus pengambilan sampel.*]

### LAJU ALIR SAMPEL

Pastikan bahwa laju alir dalam batas spesifikasi pabrik untuk sensor yang digunakan. Hal ini dapat dicapai dengan menggunakan *stopwatch* yang terkalibrasi untuk mengukur waktu yang dibutuhkan instrumen untuk mengambil dan menghitung volume sampel tertentu (yaitu waktu antara awal dan akhir siklus penghitungan

sebagaimana yang dinyatakan oleh lampu indikator instrumen atau dengan cara lain). Sensor dapat dioperasikan secara akurat dalam rentang laju alir tertentu. Laksanakan *Prosedur Pengujian* pada laju alir yang sama seperti pada kalibrasi instrumen.

## KALIBRASI

Gunakan salah satu metode berikut.

**Metode Manual** Kalibrasi instrumen dengan sekurang-kurangnya tiga kalibrator, masing-masing terdiri atas butiran polistiren berukuran hampir sama dengan diameter lebih kurang 10, 15, dan 25  $\mu\text{m}$  dalam pembawa air. Butiran kalibrator harus mempunyai diameter rata-rata dalam batas 5 % dari diameter nominal sebesar 10, 15, dan 25  $\mu\text{m}$  dan harus dibakukan terhadap bahan yang mampu telusur terhadap bahan pembanding baku NIST. Banyaknya butiran yang terhitung harus dalam batas konsentrasi sensor. Buat suspensi butiran kalibrator dalam air dengan konsentrasi 1000 - 5000 partikel per ml, dan tetapkan pengaturan saluran yang berhubungan dengan pengaturan penghitungan tertinggi untuk distribusi butiran. Penetapan dilakukan menggunakan pengaturan ambang penghitungan tertinggi untuk membagi distribusi ke dalam dua wadah yang mengandung jumlah hasil hitung yang sama, sedangkan instrumen diatur dalam penghitungan diferensial (metode "*moving window half-count*"). Untuk perhitungan hanya digunakan bagian tengah dari distribusi untuk mencegah masuknya bagian asimetris dari puncak. Bagian dari distribusi yang harus dibagi sama besar adalah bingkai penghitungan. Bingkai terikat pada pengaturan ambang yang akan menetapkan bingkai tegangan ambang pada  $\pm 20\%$  dari diameter rata-rata butiran uji. Bingkai diharapkan mencakup semua butiran tunggal, dengan memperhatikan simpangan baku butiran dan resolusi sensor, sedangkan *noise* dan gabungan butiran tidak tercakup. Nilai 20% dipilih berdasarkan resolusi sensor terburuk sebesar 10% dan simpangan baku butiran terburuk sebesar 10%. Karena ambang sebanding dengan luas butiran dari pada diameternya, pengaturan tegangan rendah dan tinggi ditetapkan menurut persamaan berikut:

$$V_L = 0,64 V_S$$

$V_L$  adalah pengaturan tegangan bawah;  $V_S$  adalah tegangan pada bagian tengah puncak; dan

$$V_U = 1,44 V_S$$

$V_U$  adalah pengaturan tegangan atas.

Jika nilai ambang tengah puncak telah ditetapkan, ambang tersebut dapat digunakan sebagai baku, untuk membuat regresi log tegangan terhadap log ukuran partikel; dari regresi tersebut dapat ditetapkan pengaturan instrumen untuk ukuran 10 dan 25  $\mu\text{m}$ .

**Metode Otomatis** Kurva kalibrasi (respon ukuran) dapat ditetapkan untuk sistem instrumen-sensor dengan menggunakan perangkat lunak validasi yang disediakan oleh pabrik instrumen; perangkat lunak tersebut mungkin merupakan bagian dari perangkat lunak instrumen atau digunakan dalam rangkaian dengan mikrokomputer yang dihubungkan dengan alat penghitung. Penggunaan metode otomatis ini tepat, jika pabrik memberikan pernyataan tertulis bahwa perangkat lunaknya menghasilkan kurva respon setara dengan hasil metode manual, bila diperlukan akan divalidasi oleh pemakai.

**Metode Elektronik** Tetapkan bagian tengah saluran dari respon penghitung partikel untuk masing-masing suspensi baku, menggunakan penganalisis tinggi puncak multisaluran. Pengaturan tegangan puncak tersebut menjadi ambang yang digunakan untuk perhitungan kurva respon tegangan dari instrumen. Suspensi baku yang digunakan untuk kalibrasi diukur secara berurutan, dan ditetapkan masing-masing nilai tengah denyut tegangan. Ambang tersebut kemudian digunakan untuk menghasilkan kurva respon ukuran secara manual atau dengan perangkat lunak yang biasa digunakan. Ambang yang ditetapkan dari data penganalisis multisaluran kemudian dipindahkan ke penghitung untuk melengkapi kalibrasi. Jika prosedur penggunaan instrumen berdasarkan komparator, maka penghitung sebelumnya harus disesuaikan secara tepat.

## RESOLUSI SENSOR

Resolusi ukuran partikel dari instrumen penghitung partikel bergantung kepada sensor yang digunakan dan dapat berbeda dengan sensor lain dengan model yang sama. Tetapkan resolusi penghitung partikel untuk partikel berukuran 10  $\mu\text{m}$  menggunakan butiran kalibrator 10  $\mu\text{m}$ . Simpangan baku relatif dari distribusi ukuran partikel baku yang digunakan tidak lebih dari 5%. Metode yang dapat diterima untuk menetapkan resolusi ukuran partikel adalah: (1) penetapan secara manual besarnya pelebaran puncak akibat respon instrumen; (2) menggunakan metode elektronik untuk mengukur dan memilih luaran tegangan sensor partikel dengan penganalisis multi saluran; dan (3) metode otomatis.

**Metode Manual** Atur penghitung partikel agar bekerja dalam moda kumulatif atau moda hitung total. Tetapkan tegangan ambang untuk bola 10  $\mu\text{m}$ , mengacu kepada kurva kalibrasi yang telah diperoleh sebelumnya. Atur 3 saluran alat penghitung yang digunakan pada prosedur kalibrasi sebagai berikut:  
*Saluran 1* diatur untuk 90% dari tegangan ambang  
*Saluran 2* diatur untuk tegangan ambang  
*Saluran 3* diatur untuk 110% dari tegangan ambang  
Aliirkan sampel melalui sensor, amati penghitungan pada *Saluran 2*. Jika penghitungan partikel di saluran tersebut telah mencapai lebih kurang 1000, hentikan penghitungan, dan amati hasil hitungan di *Saluran 1* dan

3. Pastikan bahwa hasil hitungan di *Saluran 1* dan *Saluran 3* masing-masing  $1,68 \pm 10\%$  dan  $0,32 \pm 10\%$  dari hasil hitungan di *Saluran 2*. Jika nilai tersebut belum terpenuhi, sesuaikan ambang *Saluran 1* dan *Saluran 3* sehingga memenuhi kriteria tersebut. Jika kriteria tersebut telah terpenuhi, alirkan sampel suspensi melalui alat penghitung sampai penghitungan di *Saluran 2* mencapai lebih kurang 10.000, atau sampai sejumlah volume yang sesuai (misalnya 10 ml) dari suspensi butiran telah dihitung. Periksa bahwa hasil hitungan di *Saluran 1* dan *Saluran 3* masing-masing  $1,68 \pm 3\%$  dan  $0,32 \pm 3\%$  dari hasil hitungan di *Saluran 2*.

Catat ukuran partikel pada ambang yang ditetapkan untuk *Saluran 1*, *2*, dan *3*. Kurangi ukuran partikel untuk *Saluran 2* dari ukuran partikel *Saluran 3*. Kurangi ukuran partikel untuk *Saluran 1* dari ukuran partikel *Saluran 2*. Nilai yang ditetapkan dengan cara ini adalah simpangan baku yang teramati pada sisi positif dan negatif dari nilai hitung rata-rata untuk baku 10  $\mu\text{m}$ . Hitung persentase resolusi sensor dengan rumus:

$$100 \left( \sqrt{\frac{S_o^2 - S_s^2}{D}} \right)$$

$S_o$  adalah simpangan baku tertinggi pengamatan untuk butiran,  $S_s$  adalah simpangan baku butiran menurut pabrik,  $D$  adalah diameter butiran dalam satuan  $\mu\text{m}$  menurut pabrik. Resolusi tidak lebih dari 10%.

**Metode Otomatis** Untuk beberapa alat penghitung tersedia perangkat lunak yang memungkinkan penetapan resolusi sensor secara otomatis. Perangkat lunak tersebut dapat merupakan bagian dari instrumen atau digunakan dalam rangkaian dengan mikrokomputer yang dihubungkan dengan alat penghitung. Penggunaan metode otomatis ini tepat, jika pabrik memberikan pernyataan tertulis bahwa perangkat lunak tersebut menghasilkan penetapan resolusi yang setara dengan hasil menggunakan metode manual dan jika penetapan resolusi otomatis divalidasi secara semestinya oleh pemakai.

**Metode Elektronik** Catat distribusi luaran tegangan dari sensor partikel, menggunakan penganalisis multi saluran sambil memeriksa suspensi partikel baku berukuran 10  $\mu\text{m}$ . Untuk menetapkan resolusi, kursor pada penganalisis multisaluran digerakkan naik turun pada skala potensial listrik dari nilai tengah denyut tegangan untuk menemukan saluran pada kedua sisi puncak 10  $\mu\text{m}$  yang mencatat hasil hitung lebih kurang 61% dari hasil hitung di saluran tengah. Penggunaan kurva respon ukuran penghitung untuk konversi nilai mV kedua saluran tersebut menjadi ukuran partikel dalam rentang 1 kali simpangan baku dari baku 10  $\mu\text{m}$ . Gunakan nilai tersebut untuk menghitung resolusi seperti tertera pada *Metode Manual*.

### AKURASI PENGHITUNGAN PARTIKEL

Tetapkan akurasi penghitungan partikel dari instrumen, menggunakan *Metode 1* (untuk injeksi volume kecil) atau *Metode 2* (untuk injeksi volume besar).

#### Metode I

*Prosedur* Buat suspensi dan blangko, menggunakan baku *Hitung Partikel BPF1*. Lakukan penghitungan pada pengaturan lebih besar atau sama dengan 10  $\mu\text{m}$  dan lebih besar atau sama dengan 15  $\mu\text{m}$ , instrumen diatur untuk menghitung dalam moda kumulatif (total). Campur blangko dengan cara membalikkan 25 kali dalam 10 detik dan awaudarakan campuran dengan cara sonikasi (pada 80 - 120 watt) selama 30 detik atau dengan cara mendiamkannya. Buka penutup wadah, aduk isinya perlahan-lahan dengan gerakan tangan atau secara mekanis, jaga agar gelembung udara atau cemaran tidak masuk. Aduk terus-menerus sepanjang analisis. Ambil langsung dari wadah, berturut-turut tiga bagian volume masing-masing tidak kurang dari 5 ml, lakukan penghitungan partikel dan buang data dari bagian pertama. [Catatan Selesaikan prosedur dalam 5 menit.] Ulangi prosedur menggunakan suspensi sebagai pengganti blangko. Menggunakan rata-rata hasil hitung dua analisis dua bagian suspensi pada tingkat lebih besar atau sama dengan 10  $\mu\text{m}$  dan dari analisis dua bagian blangko pada tingkat lebih besar atau sama dengan 10  $\mu\text{m}$ , hitung banyaknya partikel dalam tiap ml, dengan rumus,

$$\left( \frac{P_s - P_B}{V} \right)$$

$P_s$  adalah rata-rata hasil hitung partikel pada suspensi;  $P_B$  adalah rata-rata hasil hitung partikel pada blangko; dan  $V$  adalah rata-rata volume dalam ml dari 4 bagian yang diuji. Ulangi perhitungan, menggunakan hasil yang diperoleh pada pengaturan tidak kurang dari 15  $\mu\text{m}$ .

*Interpretasi* Instrumen memenuhi persyaratan *Akurasi Penghitungan Partikel*, bilamana hasil hitung yang diperoleh pada tingkat lebih besar atau sama dengan 10  $\mu\text{m}$  dan rasio hasil hitung pada tingkat lebih besar atau sama dengan 10  $\mu\text{m}$  terhadap hasil hitung pada tingkat lebih besar atau sama dengan 15  $\mu\text{m}$  sesuai dengan nilai yang terdapat pada baku *Hitung Partikel BPF1*. Jika instrumen tidak memenuhi persyaratan *Akurasi Penghitungan Partikel*, ulangi prosedur menggunakan suspensi dan blangko yang tersisa. Jika hasil uji kedua berada dalam batas tersebut di atas, instrumen memenuhi persyaratan uji *Akurasi Penghitungan Partikel*. Jika pada percobaan kedua instrument tidak memenuhi persyaratan uji, tetapkan dan perbaiki sumber kegagalan, dan ulangi pengujian instrumen.

#### Metode II

*Prosedur* Menggunakan butiran kalibrator baku dengan diameter nominal 15 - 30  $\mu\text{m}$ , buat suspensi yang mengandung antara 50 - 200 partikel per ml. Awaudarakan suspensi dengan cara sonikasi (pada 80 - 120 watt)

selama 30 detik atau dengan cara mendiampkannya. Suspensikan partikel dengan pengadukan hati-hati dan lakukan penghitungan lima kali pada suspensi bervolume 5 ml, menggunakan ambang berukuran 10  $\mu\text{m}$  dari penghitung partikel. Diperoleh hasil hitung partikel kumulatif rata-rata per ml. Pipet sejumlah volume suspensi tersebut yang mengandung 250 - 500 partikel ke dalam corong penyaring yang dibuat seperti tertera pada *Peralatan Penyaringan dalam Uji Hitung Partikel Mikroskopik*. Setelah membran dikeringkan, hitung jumlah total butiran baku yang terkumpul pada penyaring membran. Hasil hitung tersebut harus berada dalam batas 20% dari hasil hitung instrumental rata-rata per ml untuk suspensi tersebut.

### Lingkungan Pengujian

Lakukan pengujian dalam lingkungan yang tidak melepaskan bahan partikulat dalam jumlah yang bermakna. Contoh-contoh harus dibersihkan sedemikian sehingga tingkat penambahan partikel tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil pengujian. Sebaiknya bahan uji, alat gelas, penutup, dan peralatan lain yang diperlukan, dipersiapkan dalam lingkungan yang terlindung oleh penyaring udara partikulat berefisiensi tinggi (HEPA), dan selama penyiapan sampel digunakan pakaian serta sarung tangan yang tidak melepaskan partikel.

Bersihkan alat gelas, penutup, dan peralatan lain yang diperlukan, sebaiknya dengan cara merendam dan menyikat dalam larutan detergen nonionik hangat. Bilas dengan air mengalir, dan bilas ulang dengan air suling atau air deionisasi tersaring yang mengalir. Untuk membantu pembersihan dapat digunakan pelarut organik. *[Catatan Langkah-langkah ini merupakan salah satu cara membersihkan peralatan; cara lain, peralatan bebas partikel dapat diperoleh dari pabrik yang sesuai.]* Akhirnya, bilas peralatan dengan air suling atau air deionisasi yang tersaring, menggunakan alat penyemprot manual bertekanan dengan penyaring akhir atau sumber lain air tersaring yang sesuai, seperti air suling atau air deionisasi yang dialirkan melalui penyaring dengan porositas 1,2  $\mu\text{m}$  atau lebih kecil.

Untuk mengumpulkan hasil penghitungan blangko, gunakan bejana bersih dengan jenis dan volume yang setara dengan bejana yang digunakan pada pengujian. Tuang 50 ml air suling atau air deionisasi yang tersaring ke dalam bejana, dan aduk sampel air dalam alat gelas yang bersih tersebut dengan cara membolak-balikkan atau menggoyang. *[Catatan Volume yang lebih kecil dapat digunakan, disesuaikan dengan bahan yang akan dihitung.]* Awaudarkan dengan cara sonikasi (pada 80 - 120 watt) selama lebih kurang 30 detik atau dengan cara mendiampkannya. Goyang bejana berisi sampel air secara manual atau aduk secara mekanis agar partikel tersuspensi. Ambil dan lakukan penghitungan partikel berturut-turut terhadap tiga sampel dengan volume masing-masing tidak kurang dari 5 ml, abaikan penghitungan pertama. Jika terdapat lebih dari 10 partikel berukuran 10  $\mu\text{m}$  atau lebih besar, atau lebih dari 2 partikel berukuran 25  $\mu\text{m}$  atau lebih besar, dalam

gabungan sampel 10 ml, maka lingkungan tidak sesuai untuk analisis partikel: air suling atau air deionisasi yang tersaring dan alat gelas tidak dipersiapkan dengan baik atau alat penghitung memberikan hasil yang palsu. Dalam hal ini, ulangi langkah-langkah persiapan sampai kondisi analisis sesuai untuk pengujian.

### Prosedur Pengujian

**Persiapan pengujian** Siapkan bahan uji dengan urutan sebagai berikut. Di luar lapisan penutup, lepaskan penutup luar, pita segel dan semua etiket kertas yang dapat terlepas. Bilas bagian luar wadah dengan air suling atau air deionisasi yang tersaring seperti tertera pada *Lingkungan Pengujian*. Lindungi wadah dari cemaran sekitarnya hingga analisis selesai dilakukan. Keluarkan isi wadah yang diuji dengan cara yang mempunyai kemungkinan paling kecil menghasilkan partikel yang dapat masuk ke dalam sampel. Isi wadah yang penutupnya dapat dilepas, dapat dikeluarkan langsung dengan cara membuka penutupnya. Alat pengambil sampel yang mempunyai jarum yang dapat menembus penutup dapat pula digunakan. Sampel dari produk yang dikemas dalam wadah plastik lentur dapat diambil dengan cara memotong mulut atau salah satu sudut wadah dengan pisau atau gunting bersih yang sesuai.

Produk kering atau beku kering dapat dikonstitusikan dengan cara membuka penutupnya untuk menambahkan pengencer atau dengan cara menyuntikkan pengencer dengan alat suntik hipodermik dengan penyaring alat suntik berukuran 1,2  $\mu\text{m}$  atau lebih kecil. Jika bahan uji harus digabung, buka penutupnya dan tuang isinya ke dalam wadah bersih.

Suatu betas atau kelompok unit yang diwakili oleh bahan uji memenuhi atau melampaui batas, ditentukan oleh banyaknya bahan uji yang cukup untuk menghasilkan penilaian yang andal secara statistik. Jika volume wadah kurang dari 25 ml, lakukan pengujian dengan cara menggabungkan volume dari 10 unit atau lebih. Unit injeksi tunggal volume kecil dapat diuji tersendiri, jika volume unit individualnya 25 ml atau lebih. Untuk injeksi volume besar, lakukan pengujian terhadap tiap unit individual. Untuk injeksi volume besar atau injeksi volume kecil dengan volume unit individual 25 ml atau lebih, dapat diuji kurang dari 10 unit, berdasarkan ketentuan rencana pengambilan sampel yang sesuai.

### PENETAPAN PRODUK

Bergantung kepada bentuk sediaan yang diuji, lakukan menurut petunjuk untuk kelompok yang sesuai di bawah ini.

#### Sediaan Cair

*Volume dalam Wadah Kurang dari 25 ml* Siapkan wadah-wadah seperti tertera pada *Persiapan Pengujian*. Campur dan suspensikan bahan partikulat dalam tiap unit dengan membalikkan unit 20 kali. *[Catatan Karena beberapa produk volumenya kecil, diperlukan pengocokan lebih kuat supaya partikelnya tersuspensi*

dengan baik.] Ke dalam suatu wadah yang bersih, campurkan isi dari 10 unit atau lebih, untuk memperoleh volume tidak kurang dari 20 ml. Awaudarkan larutan gabungan dengan cara sonikasi selama lebih kurang 30 detik atau dengan cara mendinginkan larutan sampai bebas gelembung udara. Aduk isi wadah perlahan-lahan secara manual atau mekanis, jaga jangan sampai gelembung udara atau cemar masuk. Ambil sekurang-kurangnya tiga alikot, masing-masing tidak kurang dari 5 ml, tuang ke dalam sensor penghitung pengaburan cahaya. Buang data dari bagian pertama. [Catatan Untuk beberapa produk, suatu gabungan dari 15 unit atau lebih diperlukan untuk memperoleh volume gabungan yang cukup untuk tiga alikot sampel dengan volume 5 ml. Alikot sampel yang lebih kecil (yaitu kurang dari 5 ml) dapat digunakan jika hasil penetapan yang diperoleh dengan alikot kecil divalidasi dan hasil penilaiannya menunjukkan kesesuaian betas yang setara dengan hasil yang diperoleh dengan volume alikot 5 ml tersebut di atas.]

**Volume dalam Wadah 25 ml atau Lebih** Siapkan wadah-wadah seperti tertera pada *Persiapan Pengujian*. Campur dan suspensikan bahan partikulat dalam tiap unit dengan membalikkan unit 20 kali. Awaudarkan larutan dengan cara sonikasi selama lebih kurang 30 detik atau dengan cara mendinginkan larutan sampai bebas gelembung udara. Lepaskan penutup unit atau buka wadah dengan cara lain, sehingga alat penghitung dapat ditempatkan di tengah larutan. Aduk isi wadah perlahan-lahan secara manual atau mekanis. Ambil tidak kurang dari tiga alikot, masing-masing volume tidak kurang dari 5 ml, tuang ke dalam sensor penghitung pengaburan cahaya. Buang data dari bagian pertama.

**Sediaan Kering atau Beku kering** Siapkan wadah-wadah seperti tertera pada *Persiapan Pengujian*. Buka tiap wadah, jaga agar penutup atau proses membuka tidak mencemari. Konstitusikan seperti tertera pada *Penyiapan Pengujian*, menggunakan volume air yang telah disaring dan ditetapkan, atau pengencer yang tepat dan telah disaring jika air tidak sesuai untuk digunakan. Tutup kembali, dan kocok wadah secara manual secukupnya untuk memastikan pelarutan obat. [Catatan Untuk beberapa produk kering atau beku kering, wadah perlu didiamkan beberapa saat, kemudian dikocok lagi untuk menyempurnakan pelarutan.] Setelah obat dalam sampel terkonstitusi larut sempurna, campur dan suspensikan bahan partikulat yang ada pada tiap unit dengan cara membalikkannya 20 kali, sebelum analisis. Lanjutkan menurut petunjuk untuk volume unit seperti tertera pada *Sediaan Cair* dan lakukan analisis dengan mengambil sekurang-kurangnya tiga alikot, masing-masing volume tidak kurang dari 5 ml dan tuang ke dalam sensor penghitung pengaburan cahaya. Buang data dari bagian pertama.

**Produk yang Dikemas dalam Dua Bagian yang Mengandung Produk Obat dan Pelarut dalam Bagian Terpisah** Siapkan unit-unit yang diuji seperti tertera pada *Persiapan Pengujian*. Campur tiap unit

menurut petunjuk pada etiket dengan perlakuan dan pengocokan sedemikian untuk memastikan pencampuran komponen yang terpisah dan pelarutan obat. Awaudarkan unit yang diuji dengan cara sonikasi atau dengan cara mendinginkan larutan sampai bebas gelembung udara. Lanjutkan menurut petunjuk untuk volume unit seperti tertera pada *Sediaan Cair* dan lakukan analisis dengan mengambil sekurang-kurangnya tiga alikot, masing-masing volume tidak kurang dari 5 ml, tuang ke dalam sensor penghitung pengaburan cahaya. Buang data dari bagian pertama.

**Produk Berlabel “Kemasan Ruahan untuk Farmasi - Tidak untuk Infus Langsung”** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan Cair* dengan volume 25 ml atau lebih. Hitung hasil uji pada bagian yang setara dengan dosis maksimum yang tertera pada etiket. Misalnya, jika volume kemasan ruahan total 100 ml dan volume dosis maksimum 10 ml, maka hasil hitung partikel pengaburan cahaya rata-rata per ml harus dikalikan 10 untuk memperoleh hasil uji berdasarkan dosis maksimum 10 ml. [Catatan Untuk perhitungan hasil uji, bagian dosis maksimum ini dianggap setara dengan isi satu wadah penuh.]

#### Perhitungan

**Sampel Gabungan (Injeksi Volume Kecil)** Rata-ratakan hasil hitung dari dua atau lebih bagian alikot yang dianalisis. Hitung banyaknya partikel dalam tiap wadah dengan rumus:

$$\frac{PV_T}{V_A n}$$

P adalah hasil hitung partikel rata-rata yang diperoleh dari bagian yang dianalisis;  $V_T$  adalah volume sampel gabungan, dalam ml;  $V_A$  adalah volume, dalam ml, dari tiap bagian yang dianalisis; n adalah banyaknya wadah yang digabung.

**Sampel Individual (Injeksi Volume Kecil)** Rata-ratakan hasil hitung yang diperoleh dari bagian alikot 5 ml atau lebih dari tiap unit terpisah yang dianalisis, dan hitung banyaknya partikel dalam tiap wadah dengan rumus:

$$\frac{PV}{V_A}$$

P adalah hasil hitung partikel rata-rata yang diperoleh dari bagian yang dianalisis; V adalah volume, dalam ml, dari unit yang diuji;  $V_A$  adalah volume, dalam ml, dari tiap bagian yang dianalisis.

**Sampel Unit Individual (Injeksi Volume Besar)** Rata-ratakan hasil hitung yang diperoleh dari dua atau lebih bagian alikot bervolume 5 ml yang diambil dari unit

larutan. Hitung banyaknya partikel dalam tiap ml injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{P}{V}$$

P adalah hasil hitung partikel rata-rata untuk sampel individual 5 ml atau lebih; V adalah volume, dalam ml, dari bagian yang digunakan.

Untuk semua jenis produk, jika bahan yang diuji diencerkan untuk menurunkan viskositas, faktor pengenceran harus diperhitungkan dalam perhitungan hasil akhir.

### Interpretasi

Injeksi memenuhi persyaratan uji, jika menurut perhitungan banyaknya partikel yang ada dalam tiap unit tertentu yang diuji atau tiap sampel gabungan yang diuji tidak melebihi nilai yang sesuai yang tercantum pada *Tabel 1*. Jika banyaknya partikel rata-rata melebihi batas, uji sediaan dengan *Uji Hitung Partikel secara Mikroskopik*.

**Tabel 1. Hasil Hitung Partikel Uji Pengaburan Cahaya**

	$\geq 10 \mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$
Injeksi volume kecil	6000	600 per wadah
Injeksi volume besar	25	3 per ml

### UJI HITUNG PARTIKEL SECARA MIKROSKOPIK

Uji bahan partikulat secara mikroskopik dapat diterapkan pada injeksi volume besar dan injeksi volume kecil. Uji ini menghitung bahan partikulat subvisibel, pada dasarnya padat, dalam produk-produk ini atas dasar hitungan per volume atau per wadah, setelah pengumpulannya pada penyaring membran mikropori. Beberapa sediaan tidak dapat diuji menggunakan pengaburan cahaya. Dalam kasus demikian, monografi hanya menyebut cara penetapan mikroskopik ini. Larutan yang dikecualikan dari analisis secara penetapan mikroskopik disebutkan dalam monografinya. Contoh, larutan yang tidak mudah disaring karena viskositas yang tinggi (misalnya larutan dekstrosa pekat, amilum, atau dekstran). Pada cara penetapan mikroskopik, jangan mengukur atau menghitung bahan amorf, semi-cair, atau yang tidak jelas bentuknya yang tampak seperti bercak atau perubahan warna pada permukaan membran. Bahan itu hanya sedikit atau tidak timbul pada permukaan dan berbentuk seperti gelatin atau selaput. Oleh karena dalam larutan bahan tersebut terdiri atas unit-unit berukuran  $1 \mu\text{m}$  atau lebih kecil, hanya dapat dihitung setelah terjadi agregasi atau deformasi pada membran analitik, interpretasi penghitungan dapat dilakukan

dengan menguji sampel larutan secara hitung partikel pengaburan cahaya.

### Peralatan

**Mikroskop** Gunakan mikroskop binokuler majemuk yang dapat mengoreksi perubahan jarak antar pupil dengan mempertahankan panjang tabung. Gabungan lensa objektif dan okuler harus memberikan perbesaran  $100 \pm 10x$ . Objektif harus memberikan perbesaran nominal  $10x$ , berupa lensa akromat planar atau bermutu lebih baik, dengan apertur numerik minimum 0,25. Selain itu, objektif harus kompatibel dengan alat pelengkap lampu penerang episkopik. Okuler harus memberikan perbesaran  $10x$ . Selain itu, salah satu okuler harus dapat memuat dan terpusat kepada suatu gratikul okuler. Mikroskop harus mempunyai penggerak mekanis yang mampu memegang dan melintasi seluruh luas penyaringan dari penyaring membran berukuran  $25$  atau  $47 \text{ mm}$ .

**Lampu penerang** Diperlukan dua lampu penerang. Pertama adalah lampu pembantu yang dapat difokuskan, eksternal, dapat diatur untuk memberikan cahaya masuk yang miring dengan sudut  $10^\circ - 20^\circ$ . Kedua adalah lampu cerah episkopik yang merupakan bagian internal mikroskop. Kedua lampu tersebut harus mempunyai daya (watt) yang cukup untuk memberikan penerangan yang cerah dan merata dan dapat dilengkapi dengan filter biru untuk mengurangi kelelahan pemakainya.

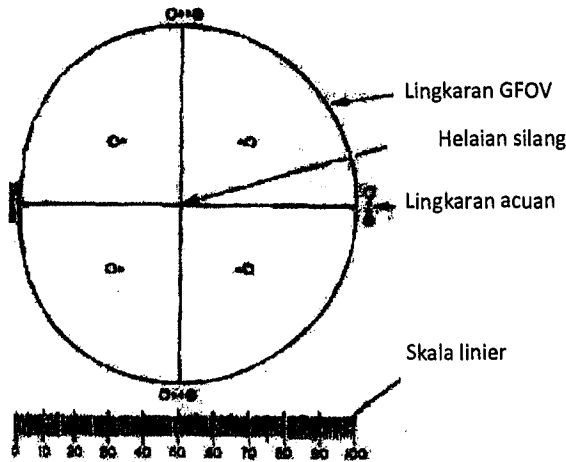
**Gratikul Diameter Lingkaran** Gunakan gratikul diameter lingkaran (lihat Gambar 1) yang disesuaikan dengan objektif dan okuler model mikroskop, sehingga lingkaran pengukur dalam batas 2% dari ukuran yang dinyatakan pada bidang meja mikroskop. Lingkaran besar yang dibagi menjadi 4 kuadran oleh benang silang disebut bidang pandang gratikul (*graticule field of view - GFOV*). Lingkaran transparan dan hitam dengan diameter  $10 \mu\text{m}$  dan  $25 \mu\text{m}$  pada perbesaran  $100x$  digunakan sebagai skala pembanding untuk pengukuran partikel.

**Mikrometer** Gunakan mikrometer meja, ditandai dengan pembagian  $10 \mu\text{m}$ , yang disertifikasi oleh NIST.

**Peralatan Penyaringan** Gunakan corong penyaring yang sesuai untuk volume pengujian, dengan diameter minimum lebih kurang  $21 \text{ mm}$ . Corong terbuat dari plastik, kaca atau baja tahan karat. Gunakan penunjang penyaring terbuat dari kawat baja tahan karat atau kaca masir sebagai penyebar penyaringan. Peralatan penyaringan dilengkapi dengan sumber vakum, penyedia pelarut yang mampu menyalurkan pelarut yang tersaring dengan ukuran tertahan  $1,2 \mu\text{m}$  atau lebih kecil pada rentang tekanan  $10 - 80 \text{ psi}$  dan penyaring membran ( $25$  atau  $47 \text{ mm}$  berpetak-petak atau tidak, hitam atau abu-abu tua, atau dari bahan yang sesuai dengan produk, dengan porositas  $1,0 \mu\text{m}$  atau lebih kecil). Gunakan pinset tumpul untuk memegang penyaring membran.



### PENYIAPAN MIKROSKOP



Gambar 1. Gratikul diameter lingkaran.

#### Lingkungan Pengujian

Gunakan lemari laminar atau lemari laminar bertutup lain, dengan kapasitas cukup untuk mencakup luas daerah penyiapan analisis dan mengandung udara yang disaring dengan penyaring HEPA, dengan jumlah partikel tidak lebih dari 100 (0,5 µm atau lebih besar) per kaki kubik. Untuk penetapan blangko, tuang 50 ml air suling atau air deionisasi yang telah disaring ke dalam corong penyaring. Vakum dan alirkan air seluruhnya melalui penyaring membran. Lepaskan membran dari dasar corong penyaring, dan letakkan di atas secarik pita perekat bersisi-dua dalam keping Petri atau cawan Petri. Setelah membran dibiarkan kering, amati dengan mikroskop pada perbesaran 100 x. Jika pada daerah permukaan penyaringan terdapat tidak lebih dari 20 partikel berukuran 10 µm atau lebih besar dan 5 partikel berukuran 25 µm atau lebih besar, maka tingkat partikel blangko cukup rendah untuk pelaksanaan penetapan mikroskopik.

Sepanjang pelaksanaan prosedur ini, dianjurkan menggunakan sarung tangan bebas serbuk dan alat gelas serta peralatan yang sangat bersih. Sebelum melakukan pengujian, bersihkan permukaan kerja dalam lemari laminar bertutup dengan pelarut yang sesuai. Alat gelas dan peralatan harus dibilas berturut-turut dengan larutan detergen bebas-residu yang hangat, air panas, air suling atau air deionisasi yang telah disaring, dan isopropanol. [Catatan Sebelum digunakan, alirkan air suling atau air deionisasi dan isopropanol melalui penyaring dengan porositas 1,2 µm atau lebih kecil.] Lakukan pembilasan di dalam lemari laminar bertutup yang dilengkapi penyaring HEPA. Biarkan alat gelas dan peralatan penyaring mengering di dalam lemari tersebut, sebelum melakukan kegiatan lain. Sebaiknya lemari HEPA yang digunakan ditempatkan di ruang terpisah, dilengkapi dengan udara ber-AC yang disaring dan bertekanan positif terhadap daerah sekitarnya.

Letakkan lampu penerang pembantu di dekat meja mikroskop, lampu difokuskan sehingga penerangan terpusat pada daerah tempat membran penyaring pada meja mikroskop. Atur tinggi lampu sehingga sudut masuk cahaya 10° - 20° terhadap bidang horizontal. Menggunakan lampu cerah episkopik internal, buka sepenuhnya diafragma bidang dan apertur. Pusatkan kawat lampu dan fokuskan mikroskop pada penyaring yang mengandung partikel-partikel. Atur intensitas penerangan yang dipantulkan hingga partikel-partikel tampak jelas dan menunjukkan bayangan yang nyata. Atur intensitas lampu episkopik serendah mungkin, kemudian tingkatkan intensitas lampu episkopik sampai bayangan partikel-partikel menunjukkan pengurangan kontras terkecil yang dapat diamati.

#### PENGGUNAAN GRATIKUL DIAMETER LINGKARAN

Kesalahan relatif gratikul yang digunakan mula-mula harus diukur dengan mikrometer meja bersertifikat NIST. Untuk melaksanakannya, tempatkan skala mikrometer gratikul dan mikrometer meja sehingga sejajar. (Bandingkan skalanya, menggunakan sebanyak mungkin penanda ukuran pada skala masing-masing.) Baca banyaknya pembagian skala gratikul (*graticule scale divisions, GSD*), dibandingkan dengan banyaknya pembagian mikrometer meja (*stage micrometer divisions, SMD*). Hitung kesalahan relatif dengan rumus

$$100 \left[ \frac{GSD - SMD}{SMD} \right]$$

Kesalahan relatif ±2% dapat diterima. Teknik dasar pengukuran yang diterapkan pada penggunaan gratikul diameter lingkaran adalah dengan cara membayangkan atau menganggap bahwa tiap partikel menjadi lingkaran, kemudian membandingkannya dengan lingkaran acuan gratikul 10 µm dan 25 µm. Proses pengukuran dilakukan tanpa membuat partikel itu berimpit dengan lingkaran acuan; partikel-partikel tidak dipindahkan dari tempatnya di dalam bidang pandang gratikul (lingkaran besar) untuk dibandingkan dengan lingkaran acuan. Bandingkan luas partikel yang akan diukur dengan luas lingkaran hitam atau transparan. Gunakan luas lingkaran acuan gratikul yang jernih untuk mengukur partikel putih atau transparan. Gunakan luas lingkaran acuan yang hitam untuk mengukur partikel yang gelap.

Putar gratikul pada okuler mikroskop sebelah kanan sehingga skala linear terletak di bagian bawah bidang pandang, fokuskan pada gratikul dengan cara mengatur cincin diopter okuler kanan sambil mengamati contoh di luar fokus. Fokuskan mikroskop pada contoh sambil mengamati melalui okuler kanan saja. Kemudian, sambil mengamati melalui okuler kiri, atur diopter okuler kiri sehingga terfokuskan pada contoh.

## PENYIAPAN PERALATAN PENYARING

Sebaiknya cuci corong penyaring, dasar penyaring dan penyebarannya dalam larutan detergen cair dan air panas. Bilas dengan air panas. Setelah pembilasan dengan air panas, lakukan pembilasan kedua dengan air suling atau deionisasi yang telah disaring, menggunakan pancaran air bertekanan pada seluruh permukaan luar dan dalam peralatan penyaringan. Ulangi prosedur pembilasan bertekanan menggunakan isopropanol yang telah disaring. Akhirnya, menggunakan alat pembilas bertekanan, bilas peralatan dengan air suling atau deionisasi yang telah disaring.

Ambil sehelai penyaring membran dari wadahnya, menggunakan pinset tumpul yang sangat bersih. Gunakan aliran air murni tersaring bertekanan rendah untuk mencuci kedua sisi penyaring secara menyeluruh, mulai dari atas dan menyapu bolak-balik ke bawah. Pasang peralatan penyaring yang telah dibersihkan dengan alat penyebar di atas dasar penyaring dan tempatkan penyaring membran yang bersih di atas alat penyebar. Tempatkan perlengkapan corong di atas dasar penyaring dan katupkan pada tempatnya.

### Prosedur Pengujian

#### PENYIAPAN PENGUJIAN

Lakukan seperti tertera pada *Persiapan Pengujian* dalam *Uji Hitung Partikel secara Pengaburan Cahaya*, mulai dari "Siapkan bahan uji dengan urutan sebagai berikut." sampai dengan "Untuk injeksi volume besar, unit individualnya yang diuji". Untuk injeksi volume kecil berisi 25 ml atau lebih diuji tersendiri dan untuk injeksi volume besar, seluruh volume unit diuji. Untuk injeksi volume besar atau injeksi volume kecil dengan volume unit individual 25 ml atau lebih, dapat diuji kurang dari 10 unit, berdasarkan ketentuan rencana pengambilan sampel yang sesuai.

#### PENETAPAN PRODUK

Bergantung kepada bentuk sediaan yang diuji, lakukan menurut petunjuk untuk kelompok yang sesuai di bawah ini.

**Sediaan Cair Campur** unit-unit yang akan diuji dengan cara membalikkan 20 kali. Buka unit-unit tersebut dengan cara yang menghasilkan sesedikit mungkin partikel yang berasal dari lingkungan. Untuk produk kurang dari 25 ml, buka dan gabung isi 10 unit atau lebih di dalam wadah bersih. Saring unit injeksi volume besar secara individual. Unit injeksi volume kecil yang volumenya 25 ml atau lebih dapat disaring secara individual.

Pindahkan seluruh volume gabungan larutan atau unit tunggal ke dalam corong penyaring, dan vakum. Jika volume larutan yang akan disaring melebihi volume corong penyaringan, tambahkan bagian larutan secara bertahap sampai seluruh volume tersaring. Jika akan digunakan prosedur hitung parsial (lihat *Prosedur*

*Hitung Parsial* dalam *Penghitungan Partikel*), jangan biarkan volume cairan pada corong penyaring turun di bawah setengah volume corong di antara tiap penambahan volume. [Catatan Gunakan corong penyaring yang sesuai dengan volume larutan, jika akan menggunakan prosedur hitung parsial. Hal ini perlu untuk memastikan penyebaran merata partikel-partikel pada membran analitik.]

Setelah penambahan larutan terakhir, bilas dinding corong dengan cara mengarahkan aliran air suling atau deionisasi yang telah disaring bertekanan rendah dengan gerak melingkari dinding corong dan membilas corong dihentikan sebelum volume turun di bawah seperempat volume corong. Pertahankan vakum hingga cairan di corong tidak bersisa.

Angkat corong penyaring dari dasar penyaring sambil mempertahankan vakum, kemudian hentikan vakum dan angkat membran penyaring dengan pinset tumpul. Tempatkan penyaring di dalam cawan Petri atau wadah sejenis, lekatkan dengan pita perekat bersisi-dua dan tandai dengan identitas sampel. Biarkan penyaring mengering di udara dalam lemari laminar bertutup dengan penutup yang sedikit terbuka.

**Sediaan Kering atau Beku kering** Untuk menguji vial serbuk kering atau wadah sejenis berisi serbuk obat, konstitusikan bahan dengan pelarut sesuai, menggunakan metode yang paling sedikit memungkinkan masuknya cemaran dari luar, seperti tertera pada *Penyiapan Pengujian* dalam *Uji Hitung Partikel secara Pengaburan Cahaya*. Menggunakan gabungan larutan dari 10 unit atau lebih, atau sejumlah unit individual yang diinginkan, lakukan seperti tertera pada *Sediaan Cair*.

**Produk yang Dikemas dalam Dua Bagian yang Mengandung Produk Obat dan Pelarut dalam Bagian Terpisah** Siapkan tiap unit seperti tertera pada etiket, kocok secukupnya untuk memastikan pencampuran menyeluruh komponen-komponen yang terpisah, kemudian lakukan seperti tertera pada *Sediaan Cair*.

**Kemasan Ruahan untuk Farmasi atau Wadah Dosis-Ganda** Untuk *Produk Beretiket "Kemasan Ruahan untuk Farmasi - Tidak untuk Infus Langsung"* atau untuk wadah dosis-ganda, lakukan seperti tertera pada *Sediaan Cair*, saring volume unit seluruhnya.

Hitung hasil uji untuk bagian yang sama dengan dosis maksimum seperti tertera pada etiket. Anggap bagian ini setara dengan isi satu wadah penuh. Misalnya, jika volume kemasan ruahan total 100 ml dan dosis maksimum tercantum 10 ml, maka hasil uji hitung volume unit total secara mikroskopik harus dikalikan 0,1 untuk memperoleh hasil uji untuk volume dosis 10 ml. [Catatan Untuk perhitungan hasil uji, anggap bagian ini setara dengan isi satu wadah penuh].

### Penghitungan Partikel

Uji secara mikroskopik yang diuraikan di seksi ini bersifat fleksibel, yaitu dapat menghitung partikel dalam contoh yang mengandung 1 partikel per ml maupun contoh yang mengandung jauh lebih banyak partikel per ml. Metode ini dapat digunakan dengan cara menghitung semua partikel pada permukaan membran analisis atau dengan cara menghitung hanya partikel-partikel pada sebagian permukaan membran.

#### PROSEDUR PENGHITUNGAN TOTAL

Pada pelaksanaan penghitungan total, bidang pandang gratikul (GFOV) yaitu lingkaran besar gratikul diabaikan dan digunakan benang silang vertikal. Telusuri seluruh membran dari kiri ke kanan pada jalur yang berdampingan dengan jalur sebelumnya. Ulangi prosedur ini dengan gerak dari kiri ke kanan dan kembali ke kiri sampai semua partikel pada membran terhitung. Catat banyaknya semua partikel berukuran 10 µm atau lebih besar dan banyaknya partikel berukuran 25 µm atau lebih besar. Untuk injeksi volume besar, hitung banyaknya partikel per ml untuk unit yang diuji dengan rumus:

$$\frac{P}{V}$$

$P$  adalah banyaknya semua partikel yang terhitung;  $V$  adalah volume larutan, dalam ml.

Untuk injeksi volume kecil, hitung banyaknya partikel per wadah dengan rumus:

$$\frac{P}{n}$$

$P$  adalah banyaknya semua partikel yang terhitung; dan  $n$  adalah banyaknya unit yang digabung ( $n = 1$ , jika digunakan unit individual).

#### PROSEDUR PENGHITUNGAN PARSIAL

Jika akan dilaksanakan penghitungan parsial partikel pada membran, pelaksana analisis pertama-tama harus memastikan bahwa partikel-partikel pada membran tersebar secara merata. Hal ini dilakukan dengan mengamati secara cepat adanya gumpalan partikel. Gumpalan tersebut tidak boleh ada satupun. Hitung partikel 10 µm atau lebih besar pada satu GFOV di tepi daerah penyaringan dan satu lagi pada bagian tengah membran. Banyaknya partikel  $\geq 10$  µm atau lebih besar di GFOV dengan hasil hitung partikel total tertinggi tidak lebih dari dua kali banyaknya partikel di GFOV dengan hasil hitung terendah. Buang penyaring yang tidak memenuhi kriteria tersebut dan siapkan yang lain jika akan digunakan prosedur penghitungan parsial atau dengan alternatif, analisis membran dengan metode penghitungan total.

Pada penghitungan parsial, banyaknya GFOV yang dihitung biasanya berjumlah 20. Jika hasil yang diinginkan mempunyai rentang keyakinan yang lebih kecil, dapat dihitung sejumlah bidang yang lebih besar dengan jumlah partikel yang lebih banyak. Hitung semua partikel dengan diameter lingkaran 10 µm atau lebih besar dan 25 µm atau lebih besar di dalam GFOV dan yang menyentuh sisi kanan lingkaran GFOV. Partikel di luar GFOV tidak diperhitungkan. Abaikan partikel yang menyentuh sisi kiri lingkaran GFOV. Garis pemisah antara sisi kanan dan sisi kiri lingkaran GFOV adalah benang silang vertikal. [Catatan Ambil kesimpulan terbaik mengenai ukuran partikel tanpa mengubah perbesaran atau penerangan mikroskop.]

Untuk melakukan penghitungan parsial partikel pada membran, dimulai dari tepi tengah kanan daerah penyaringan dan mulailah penghitungan pada GFOV yang berdekatan. Jika telah dicapai tepi kiri daerah penyaringan, pindahkan satu GFOV ke arah atas penyaring dan lanjutkan penghitungan GFOV ke arah berlawanan. Perpindahan dari GFOV yang satu ke GFOV berikutnya dapat dilakukan dengan dua cara. Metode pertama menetapkan suatu patokan (partikel atau ketidakteraturan pada permukaan penyaring) dan bergeser satu GFOV dengan patokan tersebut sebagai acuan. Metode kedua menggunakan alat pengatur pada meja mikroskop untuk bergeser 1 mm antar GFOV. Untuk membantu metode kedua, tempatkan pengatur posisi  $x$  dan  $y$  di meja mikroskop pada angka bulat pada posisi awal di tepi kanan tengah daerah penyaringan, maka GFOV berikutnya dicapai dengan pergeseran pengatur posisi  $x$  sebanyak satu satuan bulat. Jika bagian atas dari daerah penyaringan tercapai sebelum diperoleh jumlah GFOV yang diinginkan, mulailah lagi di tepi tengah kanan daerah penyaring satu GFOV di bawah yang pertama. Geserlah ke arah bawah membran, jika telah dicapai ujung baris GFOV. Lanjutkan seperti sebelumnya hingga diperoleh jumlah GFOV yang cukup. Untuk injeksi volume besar, jika digunakan prosedur penghitungan parsial untuk rentang ukuran  $\geq 10$  µm dan  $\geq 25$  µm, hitung banyaknya partikel per ml dengan rumus:

$$\frac{PA_T}{A_p V}$$

$P$  adalah banyaknya partikel yang terhitung;  $A_T$  adalah luas daerah penyaringan membran, dalam mm<sup>2</sup>;  $A_p$  adalah luas daerah parsial yang dihitung, dalam mm<sup>2</sup>, didasarkan atas banyaknya bidang gratikul yang dihitung; dan  $V$  adalah volume larutan yang disaring, dalam ml. Untuk gabungan larutan (unit injeksi volume kecil yang mengandung kurang dari 25 ml) atau unit tunggal injeksi volume kecil, hitung banyaknya partikel per unit dengan rumus:

$$\frac{PA_T}{A_p n}$$

$n$  adalah banyaknya unit yang dihitung ( $n = 1$ , jika digunakan unit individual); dan arti lambang lain seperti disebut di atas.

Untuk semua jenis produk, jika bahan uji diencerkan untuk mengurangi viskositas, faktor pengenceran harus diperhitungkan pada perhitungan hasil akhir.

**Interpretasi** Injeksi memenuhi persyaratan uji, jika banyaknya partikel yang ada (secara nyata atau menurut perhitungan) dalam tiap unit tertentu yang diuji atau tiap sampel gabungan yang diuji tidak melebihi nilai yang sesuai yang tercantum pada *Tabel 2*.

**Tabel 2. Hasil Hitung Partikel Metode Mikroskopik**

	$\geq 10 \mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$
Injeksi volume kecil	3000	300 per wadah
Injeksi volume besar	12	2 per ml

### BEBAN REGANG MINIMUM <761>

#### Metode I

Siapkan 5 potong uji bahan uji berupa pita yang mewakili sediaan uji, dengan panjang masing-masing 200 mm dan lebar seperti tidak lebih dari 25 mm (jika perlu dipotong membujur agar diperoleh pita dengan lebar seperti tersebut di atas), sehingga kedua permukaan pita dapat dikondisikan selama 24 jam sebelum pengujian dilakukan seperti tertera pada *Penyiapan sediaan dalam Identifikasi Serat <841>*.

Tetapkan beban regang tiap pita pada mesin, yang dilengkapi dengan penjepit yang dapat bergerak dengan kecepatan tetap antara 270 - 330 mm per menit, dan pada saat sediaan putus, mempunyai kapasitas pembacaan 15% hingga 85% difleksi skala penuh. Letakkan salah satu ujung pita pada penjepit yang tidak bergerak dan ujung yang lain pada penjepit yang bergerak sedemikian hingga jarak antara kedua penjepit adalah 100 mm. Setiap pita yang lepas atau putus pada jarak pengujian 10 mm dari penjepit, harus dibuang dan diganti dengan pita lain. Ulangi pengujian, terhadap 4 potong pita lainnya. Hitung nilai rata-rata.

#### Metode II

Lakukan *Metode I* menggunakan 6 potong bahan uji berupa pita dengan panjang 200 mm, dan mesin yang dilengkapi dengan penjepit yang dapat bergerak dengan kecepatan yang tetap antara 90 - 110 mm per menit. Letakkan salah satu ujung pita pada penjepit yang tidak bergerak, sedangkan ujung yang lain pada penjepit yang bergerak hingga jarak kedua penjepit adalah 175 mm, kecuali untuk sediaan plastik berbentuk lapisan tipis, jarak kedua penjepit dapat dikurangi sampai 100 mm. Ulangi pengujian terhadap 5 potong pita yang lain. Hitung nilai rata-rata.

#### Metode III

Untuk pembalut bentuk pita dengan lebar lebih dari 50 mm, buat potongan sejajar dengan tepi sedemikian sehingga didapat potongan dengan lebar tidak kurang dari 60 mm dihitung dari pusat pembalut. Kemudian buang kedua tepi pembalut tersebut sehingga didapat ukuran tepat dengan lebar 50 mm dan panjang 5 mm.

Untuk pita berukuran kurang dari 50 mm, gunakan seluruh lebar contoh, hitung hasilnya dibandingkan terhadap ukuran lebar 50 mm. Siapkan sejumlah 5 potong bahan uji dengan ukuran yang sesuai hingga jarak antara kedua penjepit adalah 200 mm. Jepit masing-masing pita pada mesin berkecepatan antara 90 - 110 mm per menit, dan tetapkan beban regang tiap potongan. Hitung nilai rata-rata.

#### Metode IV

Siapkan 10 potong bahan, tiap potong dengan lebar 50 mm dan panjang yang sesuai hingga jarak antara kedua penjepit adalah 200 mm. Potong 5 sediaan ke arah melebar dan 5 sediaan ke arah memanjang, dipotong tidak kurang dari 15 mm dari tepi sediaan untuk menghindari tepi yang terlipat atau tidak tertun sempurna. Jepit masing-masing potongan pada mesin dengan kecepatan gerak penjepit antara 90 mm hingga 110 mm per menit. Ukur beban regang tiap potongan. Hitung nilai rata-rata.

### BOBOT PER SATUAN LUAS <771>

#### 1. Sediaan Tanpa Perekat Metode I

Tetapkan bobot sediaan ( $W$  g). Ukur lebar tanpa diregangkan ( $a$  cm) dan panjang pada saat meregang sempurna ( $b$  cm) seperti tertera pada *Elastisitas <821>*. Hitung bobot per satuan luas dalam g per  $\text{m}^2$ , dengan rumus:

$$\frac{10.000 W}{ab}$$

#### Metode II

Tetapkan bobot sediaan ( $W$  g). Ukur lebar ( $a$  cm) dan panjang ( $b$  cm) tanpa diregangkan. Hitung bobot per satuan luas dalam g per  $\text{m}^2$ , dengan rumus:

$$\frac{10.000 W}{ab}$$

#### Metode III

Potong bahan yang akan diuji seluas tidak kurang dari  $100 \text{ cm}^2$  dan tetapkan bobot ( $W$  g) dan luas ( $A \text{ cm}^2$ ). Jika uji dilakukan terhadap contoh kering, lakukan koreksi

bobot terhadap lembab yang terserap kembali. Hitung bobot per satuan luas dalam g per m<sup>2</sup>, dengan rumus:

$$\frac{10.000 W}{A}$$

Jika ukuran atau jumlah satuan bahan cukup, ulangi pengujian pada contoh lainnya dan hitung nilai rata-rata.

### 2. Sediaan Tanpa Perekat Metode I

Tetapkan bobot bahan yang akan diuji (*W* g). Ukur lebar dan panjang dan hitung luas (*A* m<sup>2</sup>). Potong berbentuk empat persegi panjang dengan lebar tetap seperti semula, dengan bobot masing-masing 3 - 4 g, dari 3 tempat yang berjarak hampir sama sepanjang bahan yang diuji. Kumpulkan dan timbang saksama (*w* g) dan maserasi dengan 250 ml *kloroform P* atau pelarut lain yang sesuai sampai massa perekat terlepas. Enaptuankan tiap ekstrak melalui penyaring dengan ukuran 106 μm dan serat yang tertinggal dijadikan satu. Tambahkan *asam asetat P 50%* pada ekstrak kain dan diamkan sampai semua zink oksida larut. Enaptuankan cairan dan cuci kain dengan air sampai bebas dari asam, lewatkan air cucian melalui penyaring dan satukan benang-benang yang terdapat pada penyaring dengan kain. Keringkan kain yang sudah diekstraksi pada suhu 105°, lakukan seperti tertera pada *Penyiapan sediaan* dalam *Identifikasi Serat <841>* dan tetapkan bobot (*f* g). Hitung bobot per satuan luas dalam g per m<sup>2</sup>, dengan rumus:

$$\frac{f_w}{A_w}$$

### Metode II

Ukur luas contoh berbobot 9,0 - 11,0 g. Maserasi contoh dengan *petroleum eter P* (Jarak didih 40° hingga 60° atau pelarut lain yang sesuai hingga perekat larut sempurna dan keringkan bahan yang tersisa dengan aliran udara hangat hingga bobot tetap. Hitung bobot per satuan luas bahan dari luas contoh tanpa ekstraksi dalam g per m<sup>2</sup>.

### 3. Bobot Massa Perekat

Lakukan Prosedur seperti tertera pada *Pembalut dengan perekat* menggunakan *Metode I* atau *Metode II* seperti tertera pada monografi. Hitung bobot massa perekat dalam g per m<sup>2</sup> dengan rumus:

$$\frac{(w - f)W}{Aw} \quad \text{untuk Metode I}$$

$$\frac{(W - f)}{A} \quad \text{untuk Metode II}$$

*W* adalah bobot awal (dalam g) dari contoh tanpa ekstraksi; *w* adalah bobot contoh (dalam g) yang dipotong dari tiga tempat yang berjarak sama sepanjang bahan; *f* adalah bobot (dalam g) dari kain kering yang tersisa; *A* luas contoh awal (dalam m<sup>2</sup>) tanpa ekstraksi. Jika luas perekat yang tersebar (*B* m<sup>2</sup>) berbeda dengan luas awal contoh, ganti *A* dengan *B* dalam rumus di atas.

### DAYA KAIT JARUM BEDAH <780>

Benang bedah teradsorpsi (kolagen) dan benang bedah tidak teradsorpsi dengan daya kait jarum baku, berarti jarumnya terikat kuat dan tidak dapat terpisah. Benang bedah yang terikat dengan jarum bedah tanpa lubang termasuk kategori daya kait jarum baku atau kategori daya kait jarum lepas. Daya kait jarum lepas dari kedua benang bedah teradsorpsi ataupun benang bedah tidak teradsorpsi adalah sedemikian hingga jarum dapat dipisahkan dari benang bedah dengan sentakkan cepat. Kedua jenis daya kait diuji menggunakan alat seperti tertera pada *Daya Regang Benang Bedah <781>*.

**Prosedur** Jepit masing-masing dari 5 benang bedah dalam tensilometer sedemikian hingga jarum tepat pada penjepit dengan semua benang bedah sejajar dengan arah gaya yang akan diberikan melalui penjepit yang bergerak. Tetapkan gaya yang dibutuhkan untuk melepas benang dari jarum. Dalam hal daya kait jarum baku, benang mungkin putus tanpa terlepas dari jarum.

**DAYA KAIT JARUM BAKU** Memenuhi persyaratan jika harga rata-rata dari 5 penetapan ataupun harga masing-masing tidak kurang dari batas yang tertera pada *Tabel 1*.

**DAYA KAIT JARUM LEPAS** Memenuhi persyaratan jika harga masing-masing dari 5 benang dalam batas yang tertera pada *Tabel 2*.

[Catatan Untuk masing-masing tipe kedua kaitan, jika tidak lebih dari 1 harga masing-masing tidak sesuai dengan batas yang ditetapkan, ulangi pengujian menggunakan tambahan 10 benang. Pengujian memenuhi syarat jika tidak satupun harga masing-masing dari 10 benang tambahan tidak sesuai dengan batas yang ditetapkan.]

**Tabel 1**  
**Daya Kait Jarum Baku untuk Benang Terabsorpsi dan Tidak Terabsorpsi**

Nomor ukuran				
Benang terabsorpsi (kolagen)	Benang tak terabsorpsi dan benang sintesis terabsorpsi	Ukuran FI	Batasan daya kait jarum	
			Rata-rata (kgf) (min)	Masing-masing (kgf) (min)
	0,1	11 - 0	0,007	0,005
	0,2	10 - 0	0,014	0,010
0,4	0,3	9 - 0	0,021	0,015
0,5	0,4	8 - 0	0,050	0,025
0,7	0,5	7 - 0	0,080	0,040
1	0,7	6 - 0	0,17	0,08
1,5	1	5 - 0	0,23	0,11
2	1,5	4 - 0	0,45	0,23
3	2	3 - 0	0,68	0,34
3,5	3	2 - 0	1,10	0,45
4	3,5	0	1,50	0,45
5	4	1	1,80	0,60
6 dan lebih besar	5 dan lebih besar	2 dan lebih besar	1,80	0,70

**Tabel 2**  
**Daya Kait Jarum Lepas untuk Benang Terabsorpsi dan Tidak Terabsorpsi**

Nomor ukuran				
Benang terabsorpsi (kolagen)	Benang tak terabsorpsi dan benang sintesis terabsorpsi	Ukuran FI	Batasan daya kait jarum	
			Rata-rata (kgf) (min)	Masing-masing (kgf) (min)
1,5	1	5 - 0	0,028	1,59
2	1,5	4 - 0	0,028	1,59
3	2	3 - 0	0,028	1,59
3,5	3	2 - 0	0,028	1,59
4	3,5	0	0,028	1,59
5	4	1	0,028	1,59
6	5	2	0,028	1,59

**DAYA REGANG BENANG BEDAH <781>**

**Peralatan** Tetapkan daya regang benang bedah pada sebuah mesin uji daya regang yang digerakkan dengan motor menggunakan prinsip peregangan contoh yang konstan, mempunyai penjepit yang sesuai untuk memegang bahan dengan kuat.

Uraian ini berlaku khusus terhadap alat pengujian bidang miring.

Penarik yang dipergunakan pada setiap uji mempunyai bobot sedemikian jika putus, posisi pena perekam pada kertas grafik berada di antara 20% dan 80% dari kapasitas yang dapat direkam pada kertas. Gesekan pada penarik harus cukup rendah untuk memungkinkan pena perekam bergerak dari garis nol

pada kertas di sebuah titik, tidak lebih 2,5% dari kapasitas kertas jika tidak ada bahan yang dijepit.

Untuk benang bedah dengan ukuran sedang atau yang lebih besar, penjepit untuk pemegang bahan adalah dari tipe gulungan dengan permukaan genggam yang rata. Diameter penggulung 19 mm dan panjang permukaan genggam tidak kurang dari 25 mm. Panjang bahan setelah dijepit tidak kurang dari 127 mm dihitung dari ujung penjepit satu ke ujung penjepit lainnya. Kecepatan kemiringan bidang uji adalah sedemikian sehingga akan mencapai kemiringan penuh 30° dari kedudukan horizontal dalam waktu 20±1 detik dihitung dari saat uji dilakukan.

Untuk benang bedah dengan ukuran lebih kecil, panjang permukaan rata penjepitnya tidak kurang dari 13 mm. Panjang bahan setelah dijepit tidak kurang dari 127 mm dihitung dari penjepit ke penjepit atau 35 mm lebih pendek dari panjang yang tertera pada etiket bila jaraknya lebih pendek. Dalam hal panjang yang tertera pada etiket kurang dari 47 mm gunakan jarak antara penjepit 12 mm. Kecepatan kemiringan bidang adalah sedemikian rupa sehingga bidang mencapai kemiringan 30° dari horizontal dalam waktu 60±5 detik dari saat uji dilakukan.

**Prosedur** Tetapkan daya regang benang bedah segera setelah dikeluarkan dari kemasan, baik dalam bentuk kering atau dalam cairan, tanpa pengeringan atau pengkondisian terlebih dahulu.

Kecuali apabila ditarik lurus (tanpa simpul) seperti tertera pada monografi benang bedah, benang bedah yang akan diuji diikat pada simpul bedah, dengan satu lilitan disekeliling pipa karet lentur dengan diameter dalam 6,5 mm dan tebal dinding 1,6 mm. Simpul bedah adalah simpul persegi mula-mula ujung bebas dilingkarkan dua kali melalui lingkaran dan ditarik kuat-kuat, kemudian ujung bebas dilewatkan lingkaran kedua kedua ujungnya ditarik sehingga simpul yang kedua memperkuat simpul yang pertama. Buat simpul dengan ujung kiri berada di atas ujung kanan. Ikatan simpul harus kuat. Bila contoh uji mempunyai simpul, letakkan contoh dalam alat penguji dengan lilitan berada di tengah-tengah diantara penjepit.

Letakkan satu ujung benang bedah pada penjepit diujung peregangan dari mesin melewati ujung lain hingga ke penjepit kedua. Lakukan pengujian putus ini sejumlah seperti tertera pada masing-masing monografi. Apabila contoh putus tidak di tengah 80% dari panjang bahan, hasil tidak digunakan. Apabila pada etiket tertera panjang lilitan melebihi 7 meter (25 kaki), ambil 2 m dari tiap 5 benang yang dipilih secara acak dari suatu lot, buang 30 cm pertama (12 inci) dari ujung, buat minimum dua kali putus pada tiap lilitan berjarak lebih kurang 60 - 100 cm.

**DAYA REKAT <791>**

**ALAT**

*Lempeng baja tahan karat* Gunakan lempeng baja tahan karat, mengandung kurang dari 0,12% karbon,

tidak kurang dari 8% nikel dan tidak kurang dari 17% krom dengan ukuran 200 mm x 50 mm, tebal lebih kurang 2 mm dan kekerasan menurut *Brinell* antara 130 - 200. Permukaan lempeng digosok secara mekanis kemudian diampelas sejajar dengan panjang lempeng menggunakan ampelas yang sesuai. Permukaan yang telah diampelas diperiksa sebanyak lima kali dengan pengukuran melintang hingga diperoleh daerah 0,8 mm yang dibatasi dua garis berjarak 10 mm dari garis tengah lempeng terpanjang. Derajat kasar permukaan yang diperoleh dari garis rata-rata memenuhi simpangan aritmatik 0,05 - 0,40  $\mu\text{m}$ , tinggi maksimum ketidakteraturan lebih kecil dari 4  $\mu\text{m}$ , panjang pengambil sampel 0,8 mm dan panjang melintang lima kali panjang pengambil sampel. Searah panjang lempeng diberi tanda pada beberapa tempat pada jarak 30 mm; tanda pertama berjarak 25 mm dari salah satu ujung sisi yang lebih pendek.

Selama pengujian jaga jangan sampai terjadi goresan yang berarti pada lempeng yang dapat mengubah keadaan permukaan yang sudah ditetapkan.

Sebelum digunakan bersihkan lempeng baja dengan kapas yang telah dibasahi *toluen P*. Gantungkan lempeng dalam tangas uap toluen dan usahakan agar lempeng tidak mengenai cairan toluen. Biarkan uap toluen mencapai ujung lempeng dan pertahankan keadaan ini selama 30 menit dalam atmosfer ruang.

*Alat penggulung* Gunakan silinder logam yang telah digosok dengan diameter tidak kurang dari 50 mm. Bila perlu bobot ditambahkan hingga diperbolehkan beban 20 N (2 kgf) per cm lebar dari bahan uji.

## UJI I

Kondisikan gulungan atau lembaran plester selama 24 jam sebelum pengujian dimulai. Untuk plester dalam bentuk lembaran yang digulung, lepaskan dari gulungan dengan kecepatan lebih kurang 30 cm per detik segera pengujian dilakukan dan potong dengan panjang lebih kurang 60 mm. Jika lebar bahan tidak lebih dari 25 mm, gunakan seluruh lebar sediaan. Jika lebar sediaan lebih dari 25 mm, potong selebar 25 mm. Untuk plester dalam bentuk lembaran, lepaskan segera lapisan pelindung pada saat pengujian akan dilakukan, potong sesuai ukuran yang diperlukan. Lakukan hati-hati sehingga tidak terjadi kontaminasi pada permukaan berpekat selama pengujian.

Salah satu ujung lembaran plester yang berpekat ditempelkan pada permukaan lempeng baja tahan karat yang sudah dibersihkan sedemikian rupa, sehingga seluruh lebar lembaran dilekatkan pada lempeng berjarak 25 mm dari salah satu ujung, dengan sisi-sisi sejajar terhadap sisi lempeng yang lebih panjang dan bagian plester yang tidak dilekatkan menggantung pada ujung lempeng. Usahakan jangan sampai ada gelembung udara yang terperangkap antara plester dan lempeng. Berikan beban pada plester yang dilekatkan menggunakan *Alat penggulung*, lewatkan sebanyak empat kali pada panjang sediaan dengan kecepatan lebih kurang 60 cm per menit; kondisikan selama 10 menit

dalam atmosfer ruang. Tandai lempeng dengan membuat garis pada ujung plester. Berikan beban setara dengan berat 0,8 N (80 gf) per cm lebar pada ujung plester yang tidak dilekatkan menggunakan batang sehingga beban merata pada seluruh lebar plester. Gantungkan lempeng dalam oven udara panas yang dihubungkan dengan alat pengatur aliran udara pada suhu 36° - 38° selama 30 menit, sedemikian hingga membentuk sudut 2° dari arah vertikal hingga plester tidak terlepas dari lempeng, sedang pemberat akan tergantung dengan bebas. Ulangi pengujian ini terhadap 4 plester lainnya. Ujung paling atas dari sediaan yang menempel pada lempeng tidak boleh bergeser lebih dari 2,5 mm selama pemanasan berlangsung.

Untuk plester terbuat dari film plastik yang bersifat sangat elastis, tempelkan sepotong plester yang tidak elastis dengan lebar sama pada plester sangat elastis sebelum diberi beban.

Untuk plester terbuat dari bahan tekstil yang akan elastis ke arah panjang plester, lakukan uji menggunakan benang elastis yang dililitkan sepanjang lebar lempeng dan berikan beban searah benang yang tidak elastis. Dalam hal ini hanya dapat dilakukan pada bahan dengan lebar minimum 25 mm. Jika lebar sediaan tepat 25 mm, tempel bagian lebar bahan yang tidak elastis, yaitu panjang lebih kurang 60 mm, dan potong dengan lebar sama, tepat pada lempeng sehingga bagian yang tidak melekat akan tergantung pada ujung lempeng. Hubungkan bagian ini dengan beban berupa batang besi sehingga beban merata pada seluruh bahan.

## UJI II

Kondisikan gulungan atau lembaran plester selama 24 jam segera sebelum dilakukan pengujian. Jika plester berbentuk lembaran yang digulung, buka dari gulungan dengan kecepatan lebih kurang 30 cm per detik segera sebelum dilakukan uji, kemudian potong sepanjang lebih kurang 400 mm. Jika lebar sediaan tidak lebih dari 25 mm, gunakan seluruh lebar sediaan, jika lebar lebih dari 25 mm, potong sediaan dengan lebar 25 mm.

Jika bahan dalam bentuk lembaran, lepaskan lapisan pelindungnya segera sebelum dilakukan pengujian dan potong sesuai ukuran yang diperlukan. Lakukan hati-hati sehingga tidak terjadi kontaminasi permukaan berpekat sediaan selama pengujian.

Lekatkan bahan ditengah lempeng baja tahan karat yang sudah dibersihkan sehingga sisi bahan sejajar dengan sisi lempeng terpanjang. Berikan beban pada bagian sediaan yang melekat menggunakan alat penggulung dan biarkan lewat 4 kali pada sepanjang bahan dengan kecepatan lebih kurang 60 cm per menit, kondisikan selama 10 menit dalam atmosfer ruang.

Tetapkan daya yang diperlukan untuk melepaskan bahan dari lempeng baja menggunakan alat sedemikian hingga daya yang diperlukan menunjukkan defleksi skala penuh 15% hingga 85%, jika percobaan dilakukan pada sudut 180° dengan kecepatan lintas tetap antara 270 - 330 mm per menit. Lepaskan bahan, amati daya yang digunakan pada waktu 25 mm pertama dan pada

tiap 30 mm bahan berikutnya dilepas. Hitung harga rata-rata keenam hasil pengujian. Ulangi pengujian terhadap empat lembar bahan dan hitung rata-rata lima nilai percobaan.

Daya rata-rata yang dibutuhkan tidak kurang dari 1 N (100 gf) per cm lebar.

### DIAMETER BENANG BEDAH <801>

Alat ukur yang dipakai untuk penentuan diameter benang bedah adalah tipe bobot mati, mekanis atau elektrik, dilengkapi dengan cara baca langsung, digital terbaca atau tercetak. Gunakan alat ukur dengan skala sampai 0,002 mm atau lebih kecil. Diameter dasar alat ukur adalah lebih kurang 50 mm dan diameter penekan 12,70±0,02 mm. Penekan dan bagian-bagian bergerak yang dihubungkan dengan benang uji harus mempunyai total bobot 210±3 g. Permukaan alat penekan dan dasar alat ukur datar dalam batas 0,005 mm dan sejajar satu sama lain dengan jarak 0,005 mm. Untuk mengukur diameter benang bedah dan ukuran metrik 0,4 atau lebih kecil, berat alat penekan harus dikurangi hingga jumlah beban yang diterima benang bedah tidak lebih dari 60 g.

**Benang bedah kolagen yang dapat diabsorpsi** Tetapkan diameter benang bedah segera setelah dikeluarkan dari tempatnya tanpa diregangkan. Letakkan lilitan benang tersebut melalui bagian tengah dasar alat ukur dan alat penekan, kemudian perlahan-lahan alat penekan diturunkan sehingga seluruh bobotnya tertumpu pada benang bedah. Ukur diameter tiap lilitan pada tiga tempat berbeda, yaitu pada seperempat, setengah dan tiga per empat panjangnya.

**Benang bedah sintetik dapat diabsorpsi** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Benang bedah tidak dapat diabsorpsi*.

**Benang bedah tidak dapat diabsorpsi** Letakkan lilitan melalui bagian tengah dasar alat ukur dan alat penekan. Kemudian turunkan beban penekan perlahan-lahan hingga seluruh bobot beban penekan tertumpu pada benang bedah. Ukur benang bedah tidak dapat diabsorpsi, baik yang dikemas dalam keadaan kering maupun dalam cairan, segera setelah dikeluarkan dari kemasannya, tanpa proses pengeringan atau pengkondisian.

Ukur diameter benang bedah pada tiga tempat, pada seperempat, setengah dan tiga per empat dari panjangnya. Dalam hal benang bedah yang dikepang dengan ukuran lebih dari 3 - 0 (ukuran metrik 2), buat pengukuran pada dua titik yang tegak lurus sesamanya dan gunakan nilai rata-rata sebagai diameter yang teramat pada titik tersebut.

Pada pengukuran benang bedah multifilamen, jepitkan bagian dari lilitan yang akan diukur dengan penjepit sedemikian sehingga lilitan terletak melalui bagian tengah dasar alat ukur. Sambil memegang lilitan benang pada bidang yang sama dengan dasar alat ukur,

regangkan dengan alat sesuai misalnya dengan cara meletakkan ujung lilitan yang bebas di sekeliling silinder atau gulungan dan diberi beban lebih kurang setengah dari batas tarikan simpul untuk benang bedah tidak steril kelas I dengan ukuran tersebut, hati-hati agar lilitan tidak terpelintir. Ukur diameter pada tempat-tempat yang telah ditentukan dan hitung harga rata-ratanya.

### DIFRAKSI SINAR-X <811>

Setiap bentuk hablur dari suatu senyawa menghasilkan pola difraksi sinar-X yang khas. Pola difraksi ini dapat dihasilkan baik dari hablur tunggal maupun dari bentuk serbuk (berisi sejumlah hablur) suatu bahan. Jarak antara dan intensitas relatif puncak terdifraksi dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif bahan bentuk hablur. Teknik difraksi serbuk paling sering digunakan pada identifikasi secara rutin dan penetapan kemurnian relatif bahan bentuk hablur. Namun sejumlah kecil cemaran umumnya tidak terdeteksi dengan metode difraksi sinar-X dan untuk pengukuran kuantitatif diperlukan persiapan contoh dengan hati-hati untuk menghindari efek orientasi yang sering terjadi.

Metode serbuk mempunyai keuntungan dibandingkan dengan metode lain karena cara ini umumnya tidak merusak contoh (persiapan contoh umumnya terbatas pada penggerusan untuk menjamin orientasi acak pada contoh dan efek kerusakan senyawa obat oleh sinar-X umumnya tidak terjadi). Penggunaan data difraksi hablur tunggal adalah untuk penetapan bobot molekul dan analisis struktur hablur pada tingkat atom. Namun difraksi hablur tunggal dapat digunakan untuk menunjang pola spesifik serbuk sebagai wakil dari fase tunggal.

**Zat padat** Zat padat dapat diklasifikasikan sebagai hablur, bukan hablur atau campuran kedua bentuk tersebut. Pada bahan bentuk hablur, molekul atau atom tertata dalam susunan tiga dimensi yang disebut kisi dalam partikel padat. Tataan komponen molekul ini tidak terdapat dalam bahan bukan hablur. Zat padat bukan hablur kadang-kadang disebut sebagai kaca atau zat padat amorf bila susunan yang terulang tidak terdapat dalam seluruh susunan tiga dimensi. Mungkin juga terdapat susunan hanya dalam satu atau dua dimensi, disebut fase mesomorfik (hablur cair). Walaupun bahan bentuk hablur umumnya dianggap mempunyai bentuk morfologi luar yang tertentu, tetapi hal ini bukan keharusan untuk analisis difraksi sinar-X.

Susunan molekul yang relatif acak pada zat bukar hablur menyebabkan penyebaran sinar-X yang kurang koheren, menghasilkan puncak difusi yang lebar dalam pola difraksinya. Pola difraksi sinar-X nya sangat berbeda dengan zat bentuk hablur yang memberikan pola difraksi yang tajam.

Banyak senyawa yang dapat membentuk hablur dengan lebih dari satu jenis kisi hablur. Pada suhu dan tekanan tertentu, hanya satu bentuk hablur yang stabi



secara termodinamik. Karena laju perubahan dari fase polimorf metastabil ke fase stabil mungkin sangat lambat, adalah hal biasa menemukan beberapa hablur polimorf dalam senyawa obat pada kondisi normal.

Di samping polimorfisma, banyak senyawa membentuk solvat hablur dengan molekul pelarut sebagai bagian integral dari struktur hablur. Seperti halnya tiap polimorfisma mempunyai pola sinar-X yang spesifik, demikian juga solvatnya. Kadang-kadang perbedaan pola difraksi antara polimorfisma yang berlainan relatif kecil sehingga harus dievaluasi dengan hati-hati sebelum membuat kesimpulan. Dalam beberapa hal, polimorfisma dan atau solvatnya menunjukkan perbedaan laju disolusi. Oleh karena itu pada skala waktu ketersediaan hayati senyawa obat, terdapat perbedaan dalam jumlah obat yang terlarut, sehingga menyebabkan kesetaraan biologis yang nyata pada berbagai bentuk sediaan obat.

**Prinsip dasar** Berkas sinar-X monokromatis yang terkolimasi terdifraksi dalam berbagai arah bila jatuh pada hablur yang berotasi atau serbuk hablur yang berorientasi acak. Hablur bertindak sebagai kisi-kisi difraksi tiga dimensi terhadap radiasi ini. Fenomena ini ditunjukkan oleh hukum Braggs yang menyatakan bahwa difraksi (interferensi konstruktif) hanya dapat terjadi bila gelombang yang terhambur dari bagian berbeda dari hablur, dengan arah yang spesifik, melalui jarak tempuh yang perbedaannya merupakan angka integral ( $n$ ) dari panjang gelombang ( $\lambda$ ). Pada keadaan tersebut, gelombang berada dalam fase. Kondisi ini dinyatakan dengan persamaan Bragg:

$$\frac{n\lambda}{2 \sin \theta} = d_{hkl}$$

$d_{hkl}$  adalah jarak interplanar;  $\theta$  adalah sudut difraksi.

Sekumpulan bidang dalam ruang dapat diberi indeks dalam tiga bilangan bulat, umumnya disebut sebagai indeks Miller. Indeks ini merupakan bilangan kebalikan dan dibulatkan sampai bilangan terkecil dari perpotongan suatu bidang sepanjang sumbu sesuai dengan tiga tepi satuan sel yang tidak paralel (satuan dasar kristalografi). Dimensi satuan sel diperoleh dari jarak sepanjang ketiga sumbu  $a, b, c$  dan sudut antaranya  $\alpha, \beta$  dan  $\gamma$ . Jarak interplanar untuk sekumpulan tertentu bidang paralel  $hkl$  dinyatakan dalam  $d_{hkl}$ . Tiap kumpulan bidang demikian dapat menunjukkan tingkat difraksi yang lebih tinggi dan nilai  $d$  untuk kumpulan bidang terkait  $nh, nk, nl$  berkurang dengan faktor  $1/n$  ( $n$  merupakan bilangan bulat 2, 3, 4 dan seterusnya). Setiap kumpulan bidang dalam kristal mempunyai hubungan dengan sudut difraksi Bragg yang terkait (untuk  $\lambda$  tertentu).

Amplitudo dari berkas sinar-X yang terdifraksi dari kumpulan bidang tergantung pada sinar atom hablur sebagai berikut: 1) posisi tiap atom dalam satuan sel; 2) faktor penyebaran atom; 3) masing-masing gerakan panas. Faktor lain yang langsung dapat mempengaruhi intensitas sinar terdifraksi adalah:

1) intensitas dan panjang gelombang radiasi; 2) volume contoh bentuk hablur; 3) penyerapan sinar-X oleh contoh dan 4) susunan peralatan percobaan yang digunakan untuk merekam pada intensitas. Oleh karena itu, kondisi percobaan sangat penting dalam pengukuran intensitas difraksi.

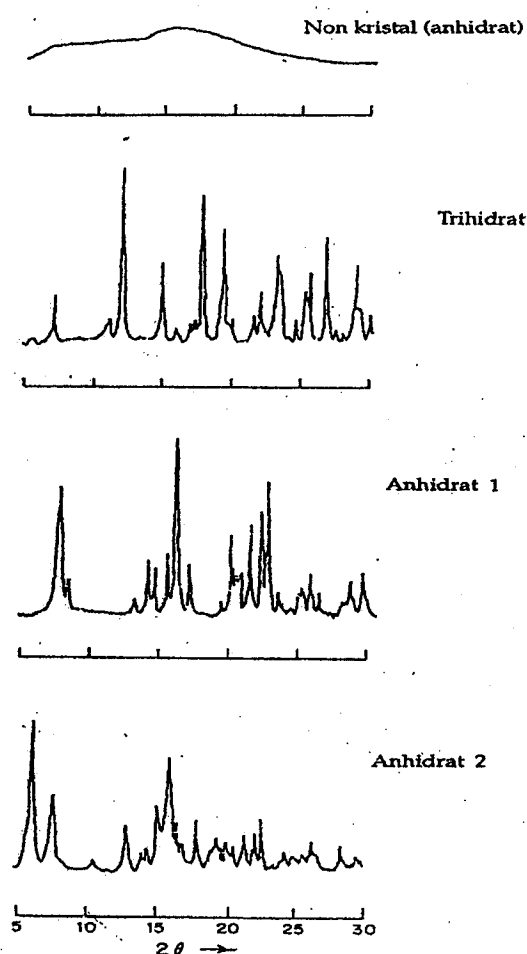
Hanya beberapa bidang Bragg yang dapat menimbulkan difraksi bila sinar-X monokromatis melalui hablur tunggal. Teknik perekaman intensitas semua bidang  $hkl$  yang mungkin terdifraksi melibatkan pergerakan hablur tunggal dan media perekam. Perekaman data ini dilakukan dengan teknik fotografi (film) atau dengan detektor radiasi.

Berkas sinar yang melalui sejumlah besar hablur kecil berorientasi acak menimbulkan kerucut sinambung sinar terdifraksi dari tiap kumpulan bidang kisi. Tiap kerucut berhubungan dengan difraksi dari berbagai bidang yang mempunyai jarak interplanar. Intensitas dari refleksi Bragg ini dapat direkam dengan film atau detektor radiasi. Sudut Bragg dapat diukur dengan mudah dari film, tetapi dengan adanya detektor radiasi telah memungkinkan untuk membuat difraktometer yang dapat langsung mengukur sudut ini. Intensitas dan jarak  $d$  lebih mudah ditentukan dengan difraktometer serbuk yang menggunakan detektor radiasi daripada metode film. Mikrofotometer sering digunakan pada pengukuran intensitas yang teliti dari film.

Salah satu contoh dari pola serbuk yang diperoleh dari empat jenis fase padat ampisilin ditunjukkan pada gambar di bawah. Pola difraksi ini diperoleh dari difraktometer serbuk yang dilengkapi dengan detektor Geiger Muller menggunakan radiasi  $\text{Cu } K_{\alpha}$  yang disaring dengan nikel.

**Radiasi** Sumber radiasi utama yang digunakan untuk difraksi sinar-X adalah tabung hampa udara dengan tembaga, molibden, besi dan krom sebagai anoda; sinar-X dari tembaga umumnya digunakan untuk senyawa organik. Pada setiap radiasi ini terdapat unsur yang dapat menahan radiasi  $K_{\beta}$  dan meneruskan radiasi  $K_{\alpha}$  (digunakan nikel pada radiasi tembaga). Dalam hal ini radiasi praktis menjadi monokromatis. Pemilihan radiasi yang akan digunakan tergantung pada sifat serapan zat dan kemungkinan fluoresensi oleh atom yang terdapat dalam contoh.

*[Perhatian Hati-hati bekerja dengan radiasi, bagi yang belum terbiasa menggunakan peralatan sinar-X, harus minta bantuan ahlinya. Penggunaan yang salah dapat membahayakan operator.]*



Pola sebuk yang khas yang diperoleh dari empat fase padat Ampisilin

**Sediaan uji** Untuk memperbaiki orientasi acak hablur (dan pada teknik film untuk menghindarkan terjadinya pola berbintik), contoh digerus halus dalam mortir. Tekanan penggerusan dapat menimbulkan perubahan fase, oleh karena itu dianjurkan untuk memeriksa pola difraksi dari sampel yang tidak digerus.

Pada umumnya, bentuk partikel hablur cenderung membuat contoh menunjukkan derajat orientasi terpilih dalam alat pemegang contoh. Hal ini terutama terlihat pada hablur bentuk jarum atau bentuk lempeng yang pada pengurangan ukuran partikel menghasilkan jarum atau lempeng yang lebih halus. Orientasi terpilih dalam contoh mempengaruhi intensitas relatif dari berbagai refleksi.

Beberapa teknik penanganan khusus dapat digunakan untuk mengurangi orientasi pilihan, tetapi teknik memperkecil ukuran partikel adalah cara yang terbaik.

Bila diperlukan pengukuran sudut Bragg yang sangat teliti, dapat ditambahkan sejumlah kecil baku internal pada contoh. Ini memungkinkan dilakukannya kalibrasi pada film atau alat perekam. Jika dilakukan perbandingan dengan nilai pada literatur untuk  $d$ , difraktometer harus dikalibrasi. Baku yang tersedia

mencakup nilai  $d$  hingga 0,998 nm. Tetradekanol dapat digunakan ( $d = 3,963$  nm) untuk jarak yang lebih besar.

Serapan radiasi oleh contoh ditentukan oleh jumlah dan jenis atom yang dilalui sinar-X. Matriks organik umumnya menyerap lebih sedikit radiasi terdifraksi dibandingkan dengan matriks anorganik. Oleh karena itu, dalam penetapan kuantitatif sangat penting dibuat kurva baku antara jumlah zat dan intensitas pada jarak  $d$  tertentu untuk zat yang ditetapkan dalam matriks yang sama dengan matriks tempat senyawa yang akan dianalisis.

Dalam analisis kuantitatif, umumnya ditambah baku pembanding dalam jumlah yang diketahui pada sejumlah bobot contoh yang akan dianalisis. Ini memungkinkan menetapkan jumlah zat relatif terhadap baku pembanding yang ditambahkan. Baku pembanding yang digunakan harus mempunyai densitas yang lebih kurang sama dan karakteristik penyerapan yang sama dengan contoh. Lebih penting lagi pola difraksinya tidak tumpang tindih sedikitpun dengan bahan yang dianalisis. Dengan kondisi ini didapatkan hubungan linier antara intensitas garis dan kadar. Dalam hal tertentu, jumlah bahan bentuk hablur sekecil 10% masih dapat ditentukan dalam matriks padat.

Identifikasi bahan bentuk hablur dapat dilakukan dengan membandingkan pola difraksi sinar-X yang diperoleh dari zat yang diketahui dengan pola difraksi zat yang belum diketahui. Perbandingan intensitas (perbandingan intensitas puncak dari jarak  $d$  tertentu dengan intensitas puncak terkuat dalam pola difraksi), dan jarak  $d$  yang digunakan dalam perbandingan. Bila *Baku Pembanding (BPFI)* tersedia, dapat dibuat pola pembanding primer dengan menggunakan alat dan kondisi yang sama seperti pada zat uji. Pada kebanyakan hablur organik adalah tepat merekam pola difraksi yang mencakup nilai  $2\theta$  dari rentang sedekat mungkin  $0^\circ - 40^\circ$ . Kesesuaian antara contoh dan baku pembanding harus dalam batas presisi kalibrasi difraktometer untuk sudut difraksi ( $2\theta$  harus dapat diulang sampai  $\pm 0,10^\circ$  hingga  $0,20^\circ$ ), sedangkan intensitas relatif antara contoh dan baku pembanding dapat berbeda hingga 20%. Untuk jenis contoh lain (seperti garam anorganik) mungkin perlu memperluas daerah  $2\theta$  yang dicacah hingga jauh melampaui  $40^\circ$ .

## ELASTISITAS <821>

### Metode I

Ukur panjang bahan tanpa diregangkan ( $L$  cm). Letakkan salah satu ujung bahan pada penjepit, ujung yang lain pada penjepit yang dapat digerakkan oleh dinamometer pegas atau alat lain yang sesuai sedemikian rupa sehingga bahan dapat meregang sesuai arah elastisitas. Ujung bahan harus terikat kuat, misalnya dengan penjepit untuk menghindari kemungkinan bahan terlepas selama diberi beban. Beri tanda pada bahan yang terletak di antara dua penjepit sehingga jarak antara masing-masing tanda lebih kurang 50 cm ( $l$  cm). Tambahkan beban secara bertahap pada penjepit bergerak hingga

tercapai 10 N per cm lebar (lebih kurang 1 kgf per cm) dan usahakan beban penuh tersebut diperoleh dalam waktu 5 detik sejak peregangan dimulai. Ukur panjang bahan antara 2 tanda dalam cm segera setelah diberi beban penuh ( $s$  cm).

Pertahankan beban dan pastikan beban tidak bertambah selama waktu peregangan antara 55 - 65 detik. Kemudian hentikan tegangan secepat mungkin dan usahakan agar bahan tidak sampai melilit. Lepaskan bahan dari penjepit kemudian lipat secara longgar dan berbiku-biku dengan lipatan antara 15 - 20 cm. Biarkan bahan selama 4,75 - 5,25 menit sejak tegangan dihentikan. Untuk bahan berperekat, sebelum dilepas dari penjepit, rapatkan ujung-ujung bahan ke arah memanjang sepanjang bahan dengan bagian berperekat di sebelah dalam. Buka lipatan dan ukur panjang bahan antara dua tanda, dinyatakan dalam cm ( $r$  cm).

Hitung panjang peregangan sempurna dengan rumus:

$$\left(\frac{L_s}{l}\right)$$

dan hitung panjang setelah diregangkan sempurna

$$\left(\frac{L_r}{l}\right)$$

Ulangi pengujian menggunakan contoh lain, dan hitung harga rata-rata.

## Metode II

Untuk bahan berbentuk pipa yang elastis ke arah bagian yang melebar, potong sepanjang 10 cm. Tandai kedua titik pengukuran melalui bagian yang melebar, dengan jarak tidak kurang dari 50% dari lebar bahan yang datar. Berikan beban seberat 20 N (lebih kurang 2 kgf) dengan cara menggerakkan jari atau batang yang dimasukkan ke dalam tabung.

## ELEKTROFORESIS <831>

Elektroforesis adalah metode analisis fisika berdasarkan migrasi partikel bermuatan yang terlarut atau terdispersi, dalam larutan elektrolit di bawah medan listrik

Mobilitas elektroforetik adalah kecepatan gerak dalam meter per detik partikel bermuatan di bawah pengaruh medan listrik 1 volt per meter dan dinyatakan dalam meter persegi per volt detik. Untuk alasan praktis dinyatakan dalam sentimeter persegi per volt detik. Mobilitas dapat ditetapkan hanya untuk elektrolit tertentu di dalam kondisi percobaan operasional yang tepat.

## ALAT

Alat untuk elektroforesis, selain elektroforesis gel poliakrilamida, terdiri atas komponen utama sebagai berikut:

1. Sumber tenaga yang sesuai yang dapat menyediakan arus searah dan dilengkapi dengan peralatan untuk menunjukkan dan mengatur tegangan atau arus yang digunakan; sirkuit tambahan dapat digabungkan untuk menstabilkan tegangan.

2. Bejana elektroforesis yang biasanya berbentuk empat persegi panjang dan terbuat dari kaca atau plastik kaku, dengan dua bak ganda yang terpisah, anode dan katode, berisi larutan elektrolit.

Pada satu kompartemen dari tiap bak dicelupkan elektrode, sebagai contoh platina atau grafit, yang dihubungkan dengan sirkuit terisolasi pada terminal yang sesuai dari sumber tenaga membentuk anode dan katode. Permukaan cairan dalam kedua bak dipertahankan sama tinggi untuk mencegah penyedotan. Kontak antara kompartemen dalam dan luar dari tiap-tiap bak ganda dibuat dengan jembatan kertas elektroforesis atau dengan melubangi bagian tengah dengan beberapa lubang atau metode lain yang sesuai. Bejana elektroforesis dilengkapi dengan penutup kedap udara yang dapat mempertahankan kelembaban udara jenuh selama percobaan dan mengurangi penguapan pelarut. Alat pengaman dapat digunakan untuk memutuskan arus jika tutup dibuka. Jika daya listrik yang diukur melebihi 10 W, sebaiknya dinginkan penyangga

3. Alat pembawa penyangga

*Elektroforesis bidang* Bidang penyangga, sebelumnya dibasahi dengan larutan penghantar yang sama dan dicelupkan masing-masing ujungnya ke dalam kompartemen tiap bak yang tidak berisi elektrode, dilekatkan dengan kuat pada pembawa yang sesuai yang dirancang untuk mencegah difusi elektrolit penghantar, seperti bingkai horisontal, penyangga bentuk V yang terbalik atau permukaan serba sama dengan titik kontak pada jarak antara yang sesuai.

*Elektroforesis gel* Alat terdiri dari sebuah lempeng kaca (misalnya kaca obyektif) dengan suatu lapisan gel yang dilapiskan di atas seluruh permukaan dengan ketebalan serba sama. Hubungan antara gel dan larutan penghantar dipengaruhi dalam berbagai cara tergantung pada tipe dari peralatan yang digunakan. Harus diperhatikan untuk mencegah terjadinya kondensasi uap air atau pengeringan lapisan padat.

4. Alat pengukur atau pendektesi

Peralatan untuk elektroforesis gel poliakrilamida terdiri dari dua wadah dapar terbuat dari bahan yang sesuai seperti poli-(metil metakrilat) yang dipasang vertikal satu di atas lainnya. Tiap wadah dilengkapi dengan elektrode platna. Elektrode dihubungkan dengan sumber tenaga yang memungkinkan pengoperasian pada arus konstan atau pada tegangan konstan. Untuk gel batang, bagian dasar wadah sebelah atas mempunyai beberapa pegangan yang sama jaraknya dari elektrode.

## Metode

### ELEKTROFORESIS GEL-AGAR

#### Metode I

Letakkan sebuah bingkai logam atau plastik yang sesuai pada lempeng kaca, lekatkan tepi bagian dalam pada lempeng dengan sejumlah kecil *Media A cair*, letakkan lempeng di atas permukaan yang datar dan tuang secukupnya *Media A cair* yang sebelumnya diinokulasi dengan *Inokulum organisme uji A 1%* sehingga menghasilkan lapisan dengan ketebalan 1,2 - 1,6 mm. Biarkan media membeku, angkat bingkai dan buat tidak kurang 32 lubang dengan diameter lebih kurang 1 mm, dalam media dengan cara sedemikian hingga larutan dapat ditempatkan dalam bentuk desain kuadrat Latin atau blok teracak dan mempunyai jarak yang cukup untuk pemisahan komponen.

Masukkan sejumlah 5 µl masing-masing dari 4 larutan yang tertera pada monografi dalam lubang sesuai disain yang dipilih. Pindahkan lempeng yang telah disiapkan ke dalam alat elektroforesis dan masukkan ke dalam tiap bak sejumlah volume sama *Media A cair*, yakinkan bahwa posisi lempeng datar. Dengan menggunakan sumbu yang terdiri dari lapisan ganda kain jerap tirus yang dibasahi dengan *metode A cair* hubungkan isi kompartemen yang sesuai dari tiap-tiap bak dengan media pada lempeng yang sudah disiapkan; untuk hal yang terakhir ini sumbu harus mencapai 2 cm melewati media padat dan ditekan hati-hati supaya terjadi kontak. Tutup bejana dan berikan tegangan antara elektrode untuk menghasilkan tegangan 15 - 20 volt per cm panjang lapisan *Media A*, sebaiknya menggunakan sumber tegangan yang distabilkan. Selama elektroforesis alirkan air atau cairan pendingin lain yang sesuai melalui lempeng logam untuk mencegah suhu naik di atas 15°. Dalam udara dengan kelembaban tinggi, kondensasi uap air dapat terjadi pada permukaan lapisan *Media A* jika ventilasi kotak dan pendinginan tidak terkendali dengan baik.

Biarkan elektroforesis berlangsung hingga pemisahan dari zat yang akan ditetapkan telah tercapai. Lepaskan elektrode, angkat lempeng kaca, tutupi dan inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 jam, sambil dijaga jangan sampai lapisan media menjadi kering. Ukur diameter, pada suhu 90° terhadap arah migrasi, dari zone inhibisi yang dihasilkan oleh larutan pembanding dan setiap zone yang sesuai yang dihasilkan oleh zat uji. Hitung hasil presentase dari zat uji.

#### Metode II

Lakukan *Metode I* dengan modifikasi sebagai berikut : gunakan masing-masing *Media B*, *Media B cair* dan *inokulum organisme uji B* sebagai ganti *Media A*, *Media A cair* dan *inokulum organisme uji A*.

Berikan tegangan antara elektrode untuk menghasilkan tegangan 25 - 30 volt per cm dari panjang lapisan *Media B*. Biarkan elektroforesis selama 2 jam.

### ELEKTROFORESIS GEL-AGAROSE

Gunakan lempeng kaca dengan dimensi yang sesuai yang pada permukaannya melekat erat lapisan gel tipis *Agarose FE*, dengan ketebalan serba sama. Gunakan *larutan elektrolit I* untuk menyeimbangkan agarose. Totolkan secara terpisah pada gel 2 - 3 µl larutan yang disiapkan seperti tertera pada monografi. Tutup bejana, hubungkan elektrode pada sumber tenaga dan biarkan elektroforesis pada arus 1 - 2 mA per cm lebar gel pada tegangan 300 volt selama lebih kurang 10 menit. Lepaskan elektrode, angkat lempeng kaca dan warnai gel menggunakan larutan *toluidina biru P 0,1%*, hilangkan kelebihan dengan pencucian. Evaluasi gel seperti tertera dalam monografi.

### ELEKTROFORESIS GEL-AGAROSE PATI

Gunakan lempeng kaca dengan ukuran yang sesuai. Tempatkan sebuah bingkai logam atau plastik pada lempeng kaca, lekatkan tepi bagian dalam pada lempeng dengan sejumlah kecil *Media C cair*, letakkan lempeng pada suatu permukaan yang datar dan tuangkan secukupnya *Media C cair* untuk menghasilkan lapisan dengan ketebalan lebih kurang 1 mm. Biarkan media membeku, angkat bingkai dan buat 2 buah lubang dengan diameter 1 mm pada permukaan media. Lubang harus berjarak 5 cm satu sama lainnya dan 5 cm dari salah satu ujung lempeng.

Masukkan ke dalam lubang sejumlah 5 µl masing-masing larutan seperti tertera pada monografi, tuangkan ke dalam masing-masing kompartemen bejana sejumlah volume yang cukup *Larutan elektrolit II* dan letakkan lempeng gel menghadap ke atas, di dalam bejana, pastikan bahwa lempeng datar. Dengan menggunakan sumbu yang terdiri dari dua lapisan kain tirus penjerap dan dibasahi dengan *Larutan elektrolit II*, hubungkan isi kompartemen yang sesuai dari masing-masing bak dengan media padat pada lempeng yang disiapkan hingga katode dihubungkan pada ujung akhir lempeng yang berlubang; sumbu harus mencapai 2 cm melewati media padat dan ditekan perlahan-lahan hingga terjadi kontak. Tutup bejana dan berikan tegangan 20 volt per cm panjang lapisan media, sebaiknya menggunakan sumber tegangan yang distabilkan. Biarkan elektroforesis berlangsung selama 30 menit, lepaskan elektrode dan angkat lempeng kaca. Gunakan prosedur yang sama seperti tertera di atas, lapis gel dengan Lapisan *Media A cair* yang sebelumnya telah di inokulasi dengan *inokulum organisme uji A 1%* untuk menghasilkan lapisan dengan ketebalan 1,2 - 1,6 mm. Inkubasi pada suhu 30° - 35° selama 18 jam dan ukur zone inhibisi yang dihasilkan.

### ELEKTROFORESIS SELULOSA ASETAT

Jika tidak dinyatakan lain gunakan *Metode I*.

#### Metode I

Isi bak pada alat dengan larutan elektrolit seperti tertera pada monografi. Rendam lembaran selulosa asetat dengan ukuran yang sesuai selama 5 menit dalam larutan yang sama dan tekan lembaran agar kering di antara kertas saring. Totolkan secara terpisah pada lembaran

pada titik-titik 1 cm dari ujung anode dengan jarak 2,5 cm satu sama lainnya, 1  $\mu$ l masing-masing larutan seperti tertera pada monografi. Atur tegangan seperti tertera pada monografi dan lakukan elektroforesis menurut waktu yang telah ditentukan. Tekan lembaran agar kering dan rendam ke dalam larutan yang dibuat sebagai berikut: 1 g kalium heksasianoferat(III) P dalam 50 ml air dan tambahkan 2 ml larutan jenuh besi(III) klorida heksahidrat P. Cuci dengan larutan asam ortofosfat P 5% hingga latar belakang sepuat mungkin dan akhirnya cuci dengan air. Amati elektroforetogram.

#### Metode II

Isi bak dengan campuran dapar barbital pH 8,6. Jika tidak dinyatakan lain gunakan lembaran selulosa asetat terpisah untuk masing-masing larutan seperti tertera pada monografi dan totolkan 2,5  $\mu$ l larutan dalam bentuk pita 10 mm, atau jika digunakan lembaran lebih sempit, totolkan 0,25  $\mu$ l larutan per mm lebar lembaran. Berikan medan listrik yang sesuai hingga pita yang paling cepat bergerak tidak kurang dari 30 mm. Pita dicat dengan larutan hitam naftalena 12B P 0,5% dalam campuran metanol P dan asam asetat 5 M (90:10) selama 5 menit, kemudian warna dihilangkan dengan campuran metanol P dan asam asetat 5 M (81:19) hingga latar belakang sedapat mungkin transparan. Ukur serapan pita pada 600 nm dengan alat yang mempunyai respons linier di atas rentang tidak kurang dari 0 - 3 (seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>*). Hitung hasil rata-rata dari tiga kali pengukuran pada tiap lembar.

#### ELEKTROFORESIS KERTAS

Isi bak bejana dengan larutan elektrolit seperti tertera pada monografi.

Totolkan secara terpisah pada titik sepanjang garis penotolan (lebih kurang 13 cm dari salah satu ujung *Kertas elektroforesis*), 1 cm dari tepi kertas dan dengan jarak penotolan tidak kurang dari 2,5 cm sejumlah volume larutan yang dibuat seperti tertera pada monografi.

Biarkan bercak kering dan kemudian tempatkan ujung kertas yang dekat dengan garis penotolan dalam kompartemen yang sesuai dari bak anode dan ujung lain dalam kompartemen yang sesuai dari bak katode. Basahi kertas menggunakan larutan elektrolit dengan cara yang sesuai (misalnya gunakan sikat, mulai dari ujung hingga tempat garis penotolan). Lembaran tempat contoh ditotolkan tidak boleh dibasahi. Tutup bejana, biarkan larutan elektrolit berfungsi melintasi garis penotolan, jika perlu tutup alat hingga terhindar dari cahaya, hubungkan kabel pada sumber tenaga dan hidupkan arus. Atur tegangan hingga lebih kurang 20 volt per cm kertas antara bak dan lakukan elektroforesis selama waktu yang ditetapkan atau hingga zat pemberi tanda telah menempuh jarak yang ditetapkan, jika perlu di tempat gelap, dengan aliran udara dan amati di bawah lampu ultra violet (254 nm).

#### ELEKTROFORESIS GEL POLIAKRILAMIDA

Gel dapat dibuat dalam tabung (gel batang), satu larutan digunakan untuk tiap tabung, atau dapat dibuat antara lempeng kaca (gel lempeng), beberapa larutan digunakan untuk tiap lempeng.

**Metoda I** Buat *Campuran gel A* pada suhu ruang segera sebelum digunakan. Tuangkan ke dalam tabung kaca bersih 7,5 cm x 0,5 cm yang tertutup bagian dasarnya, hingga jarak sama (lebih kurang 1 cm) dari masing-masing ujung atas. Pada bagian dasar tidak boleh ada gelembung udara yang terperangkap. Tutup campuran gel dalam tabung dengan lapisan air untuk menghilangkan udara dan biarkan memadat. Pembentukan gel umumnya memerlukan waktu lebih kurang 30 menit dan sempurna jika terbentuk batas tajam antara gel dan lapisan air. Hilangkan lapisan air. Isi pencadang bawah dengan *Dapar tris-glisin pH 8,3*. Pasang tabung, yang tutupnya telah dilepaskan, ke dalam pemegang karet di dalam pencadang atas dan turunkan ke posisi sedemikian hingga bagian dasar tabung terendam dalam larutan dapar dalam pencadang bawah.

Totolkan larutan, yang dibuat seperti tertera pada monografi dan diencerkan dengan volume sama larutan jenuh sukrosa P, satu larutan pada bagian atas dari masing-masing gel. Tuangkan dengan hati-hati *Dapar trisglisin pH 8,3* pada bagian atas larutan hingga seluruh tabung terisi penuh, kemudian tambahkan lagi larutan dapar yang sama pada pencadang atas. Tambahkan 0,2 ml larutan biru bromofenol P. Hubungkan elektrode pada sumber tenaga dan lakukan elektroforesis pada arus tetap 1 mA per tabung selama 30 menit, kemudian naikkan menjadi 3 mA per tabung. Matikan arus jika pita biru bromofenol telah bergerak melalui gel hampir mendekati pencadang bawah. Angkat masing-masing tabung dari alat dan keluarkan gel dengan melepaskannya di bawah air dengan kawat baja tahan karat halus atau dengan menyuntikkan air antara gel dan dinding tabung dengan alat suntik yang dilengkapi jarum halus dan keluarkan dari tabung dengan ujung pipet.

**Prosedur pewarnaan** Rendam gel dalam hitam naftalena LP dalam tabung uji selama 1 jam, pindahkan ke dalam wadah plastik yang tertutup dengan dinding berlubang dan aduk dalam asam asetat 1 M selama 1 malam untuk menghilangkan kelebihan zat warna. Gel dapat disimpan dalam asam asetat 1 M. Evaluasi gel seperti yang tertera dalam monografi.

#### Metode II

Lakukan seperti *Metode I* dengan modifikasi sebagai berikut: gunakan *Campuran gel B* sebagai ganti *Campuran gel A*. Tempatkan larutan yang dibuat seperti tertera pada monografi, satu larutan pada bagian atas dari masing-masing gel.

**Prosedur pewarnaan** Rendam gel dalam larutan asam trikloroasetat P 12,5%. Selama tidak kurang dari 1 jam. Untuk tiap 10 ml larutan asam yang digunakan tambahkan 0,5 ml larutan biru asam 90 P 0,25% dan biarkan selama 1 malam. Masukkan larutan pewarna dan cuci gel dengan tidak kurang dari satu kali penggantian

asam asetat 1 M. Setelah dipindahkan dari pencucian simpan gel dalam asam asetat 1 M. Evaluasi seperti tertera pada monografi.

#### Pereaksi

Agarose FE Gunakan kualitas untuk elektroforesis.

Larutan elektrolit I Campur 50 ml asam asetat glasial P dan 800 ml air, atur pH hingga 3,0 dengan litium hidroksida P dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

Larutan elektrolit II Larutkan 1,015 g kalium fosfat dibasa P dan 340 mg kalium fosfat monobasa P dengan air hingga 1000 ml.

Kertas elektroforesis Kertas saring yang sesuai (Whatman 3 MM atau kualitas yang sama) yang telah dicuci secara kromatografi selama 16 jam dengan campuran aseton P dan air (2:1). Setelah pengeringan, potong kertas menjadi lembaran dengan ukuran yang sesuai.

Campuran gel A Campur air, Larutan A, Larutan B dan larutan amonium persulfat P 0,14% (1:1:2:4). Buat gel segera sebelum digunakan.

Campuran gel B Campur 1 bagian volume larutan A, 2 bagian volume larutan B, urea P secukupnya hingga kadar 8 M (11,5 g untuk volume akhir 24 ml) dan air secukupnya hingga volume total 7 bagian volume. Jika perlu hangatkan hingga suhu tidak lebih dari 40° sampai urea larut. Larutan diawaudarakan dan tambahkan 1 bagian volume larutan amonium persulfat P 0,56%. Buat gel segera sebelum digunakan.

Inokulum organisme uji A Biakkan *Bacillus subtilis* (NCTC 8236) pada suhu 37° - 39° selama 7 hari pada permukaan Media A yang mangan(II) sulfat P 0,001%. Gunakan air steril, cuci pertumbuhan, yang sebagian besar terdiri dari spora, dan encerkan hingga diperoleh suspensi yang sesuai; derajat pengenceran harus ditetapkan berdasarkan percobaan. Suspensi yang sesuai umumnya mengandung antara 10<sup>7</sup> - 10<sup>8</sup> spora per ml. Suspensi dapat disimpan untuk waktu yang lama pada suhu tidak lebih dari 4°.

Inokulum organisme uji B Buat seperti pada Inokulum organisme uji A, tetapi menggunakan Media B sebagai ganti Media A.

#### Media A

Pepton P	6 g
Digesti pankreatik kasein P	4 g
Ekstrak daging sapi P	1,5 g
Ekstrak ragi P	3 g
D-glukosa monohidrat	1 g
Agar P	15 g
Air secukupnya hingga	1000 ml

Sterilkan dengan pemanasan dalam otoklaf. Segera sebelum digunakan atur pH hingga 6,5 dengan penambahan asam klorida 0,1 N.

Media A cair Buat seperti tertera pada Media A menggunakan bahan yang sama tanpa menggunakan agar P.

#### Media B

Pepton P	3,0 g
Digesti pankreatik kasein P	2,0 g
Ekstrak daging sapi P	750 mg
Ekstrak ragi P	1,5 g
Agar P	10,0 g
Air secukupnya hingga	1000 ml

Sterilkan dengan pemanasan dalam otoklaf. Segera sebelum digunakan atur pH hingga 6,5 dengan penambahan asam klorida 0,1 N.

Media B cair Buat seperti tertera pada Media B menggunakan isi yang sama tanpa menggunakan agar P.

#### Media C

Agarose FE	10 g
Pati terhidrolisa	10 g
Larutan elektrolit II secukupnya hingga	1000 ml

Tambahkan agarose FE dan pati terhidrolisa pada larutan elektrolit dan panaskan dalam uap jenuh pada suhu 121° hingga larut. Pertahankan gel yang dilelehkan pada suhu 50° sampai saat digunakan.

#### Dapar yang digunakan untuk penotolan

Tris (hidroksimetil) metilamina P	1,5 g
Asam klorida 1 N	12 ml
Urea P	96,0 g
Air secukupnya hingga	200 ml

#### Larutan A

Tris (hidroksimetil) metilamina P	36,6 g
N,N,N',N'-Tetrametiletilediamina P	0,23 ml
Asam klorida 1 N	48,0 ml
Air secukupnya hingga	100 ml

#### Larutan B

Akrilamida P	30,0 g
N,N'-metilenbisakrilamida P	735 mg
Air secukupnya hingga	100 ml

### ESTIMASI DISTRIBUSI UKURAN PARTIKEL DENGAN PENGAYAK ANALITIK <835>

Pengayakan adalah salah satu metode paling konvensional untuk mengelompokkan serbuk dan granula berdasarkan distribusi ukuran partikel. Pengayak dari kain tenun akan memisahkan partikel berdasarkan ukuran dimensi menengah (contohnya luas atau lebar). Pengayakan secara mekanis adalah metode yang paling sesuai untuk sebagian besar partikel yang berukuran lebih besar dari 75 µm. Untuk ukuran partikel yang lebih kecil, bobot yang ringan tidak memiliki gaya yang cukup untuk melawan gaya permukaan kohesi dan adhesi yang menyebabkan partikel saling melekat satu sama lain dan melekat pada pengayak selama pengayakan, yang menyebabkan partikel tertahan tidak melewati pengayak. Untuk sejumlah zat, cara agitasi seperti pengayakan

udara-jet atau pengayakan sonik merupakan cara yang lebih sesuai. Meskipun demikian, pengayakan terkadang dapat digunakan untuk beberapa ukuran partikel yang lebih kecil dari 75 µm ketika metode ini bisa divalidasi. Dalam sediaan farmasi, pengayakan biasanya dipilih untuk mengelompokkan tingkat kekasaran dari serbuk dan granul. Metode ini sering dipilih untuk mengelompokkan serbuk dan granul berdasarkan pada ukuran partikel, dan pada umumnya penetapan dilakukan dalam keadaan kering.

Keterbatasan metode pengayakan diantaranya adalah membutuhkan zat uji bentuk serbuk atau granul dalam jumlah yang cukup besar (biasanya tidak kurang dari 25 g, tergantung pada densitas serbuk atau granul dan diameter ayakan) dan kesulitan dalam pengayakan serbuk atau granul yang berminyak atau gaya kohesi lain, yang cenderung menyebabkan pengayak tersumbat. Metode ini pada dasarnya merupakan perhitungan dua dimensi ukuran karena seringkali yang melewati celah ayakan tergantung dari lebar dan ketebalan dibandingkan dengan panjang.

Metode ini dimaksudkan untuk memperkirakan distribusi ukuran partikel total dari zat tunggal. Metode ini tidak dimaksudkan untuk menentukan proporsi partikel yang melewati atau tertahan dalam satu atau dua pengayak.

Perkiraan distribusi ukuran partikel tertera dalam *Metode Pengayakan Kering*, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi. Jika terdapat kesulitan dalam melakukan pengayakan (contoh, zat yang tidak mudah melalui pengayak) atau jika perlu menggunakan pengayak yang lebih halus pada akhir pengayakan (di bawah 75 µm), dapat dipertimbangkan penggunaan metode lain untuk pemisahan partikel.

Pengayakan harus dilakukan pada kondisi yang tidak menyebabkan kelembaban zat uji meningkat atau

berkurang. Kelembaban relatif ruangan selama pengayakan dilakukan harus dikendalikan untuk mencegah terjadinya peningkatan atau penurunan kelembaban yang disebabkan oleh zat uji. Uji pengayakan secara analitik biasanya dilakukan pada kelembaban ruang. Kondisi khusus yang dipakai oleh zat tertentu harus dijelaskan dalam masing-masing monografi.

**Prinsip Pengayakan Analitik** Pengayak analitik dibuat dari tenunan kawat, yang ditunen secara sederhana yang diasumsikan bentuknya seperti jaring persegi dan dilekatkan pada dasar wadah silinder yang terbuka. Dasar dari metode pengayakan adalah menyusun pengayak berdasarkan derajat kekasaran yang meningkat, kemudian zat uji ditempatkan pada pengayak paling atas.

Sarang pengayak digunakan untuk standarisasi periode agitasi, kemudian bobot zat yang tertahan pada setiap pengayak ditimbang saksama. Hasil uji menunjukkan persentase bobot serbuk dalam setiap rentang ukuran pengayak.

Proses pengayakan untuk memperkirakan distribusi ukuran partikel pada serbuk sediaan farmasi tunggal umumnya digunakan untuk memperoleh partikel yang sedikitnya 80% mempunyai ukuran lebih besar dari 75 µm. Parameter ukuran yang berperan dalam menentukan distribusi ukuran partikel dengan pengayakan secara analitik adalah panjang sisi terkecil dari lubang persegi pengayak yang dilewati partikel.

#### Uji Pengayak

Uji pengayak untuk uji farmasi sesuai dengan edisi terbaru *International Organization of Standardization Specification ISO 3310-1* : Uji Pengayak-Persyaratan Teknis dan Pengujian (lihat *Tabel 1*). Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan pengayak ISO seperti tertera pada *Tabel 1*.

Tabel 1. Ukuran dari seri pengayak standar untuk berbagai keperluan

Nominal Pengayak berdasarkan ISO			Nomor Pengayak US	Nomor Pengayak yang Direkomendasikan USP (mikron)	Nomor Pengayak Eropa	Nomor Pengayak Jepang
Ukuran Utama	Ukuran tambahan					
R 20/3	R 20	R 40/3				
11,20 mm	11,20 mm	11,20 mm				
	10,00 mm	9,50 mm				
	9,00 mm					
8,00 mm	8,00 mm	8,00 mm				
	7,10 mm	6,70 mm				
	6,30 mm					
5,60 mm	5,60 mm	5,60 mm			5600	3,5
	5,00 mm	4,75 mm				4
	4,50 mm					
4,00 mm	4,00 mm	4,00 mm	5	4000	4000	4,7
	3,55 mm	3,35 mm	6			5,5
	3,15 mm					
2,80 mm	2,80 mm	2,80 mm	7	2800	2800	6,5
	2,50 mm					

		2,36 mm	8			7,5
2,00 mm	2,24 mm					
	2,00 mm	2,00 mm	10	2000	2000	8,6
	1,80 mm					
1,40 mm		1,70 mm	12			10
	1,60 mm					
	1,40 mm	1,40 mm	14	1400	1400	12
1,00 mm	1,25 mm					
		1,18 mm	16			14
	1,12 mm					
710 µm	1,00 mm	1,00 mm	18	1000	1000	16
	900 µm					
		850 µm	20			18
500 µm	800 µm					
	710 µm	710 µm	25	710	710	22
	630 µm					
355 µm		600 µm	30			26
	560 µm					
	500 µm	500 µm	35	500	500	30
250 µm	450 µm					
		425 µm	40			36
	400 µm					
180 µm	355 µm	355 µm	45	355	355	42
	315 µm					
		300 µm	50			50
125 µm	280 µm					
	250 µm	250 µm	60	250	250	60
	224 µm					
90 µm		212 µm	70			70
	200 µm					
	180 µm	180 µm	80	180	180	83
63 µm	160 µm					
		150 µm	100			100
	140 µm					
45 µm	125 µm	125 µm	120	125	125	119
	112 µm					
		106 µm	140			140
20 µm	100 µm					
	90 µm	90 µm	170	90	90	166
	80 µm					
10 µm		75 µm	200			200
	71 µm					
	63 µm	63 µm	230	63	63	235
5 µm	56 µm					
		53 µm	270			282
	50 µm					
2 µm	45 µm	45 µm	325	45	45	330
	40 µm					
		38 µm			38	391

Pemilihan pengayak harus mencakup seluruh rentang ukuran partikel zat uji. Susunan pengayak disarankan mempunyai peningkatan bukaan lubang pengayak sebesar  $\sqrt{2}$ . Susun ayakan dengan bukaan terbesar di bagian paling atas dan pengayak dengan bukaan terkecil di bagian paling bawah. Gunakan satuan mikrometer atau milimeter dalam menunjukkan bukaan pengayak. [Catatan Jumlah mesh dalam tabel hanya untuk tujuan konversi.] Pengayak terbuat dari baja tahan karat, sedangkan kuningan, atau kawat non-reaktif lainnya kurang disukai.

Kalibrasi dan kalibrasi ulang pengayak sesuai dengan edisi terbaru dari ISO 3310-1. Sebelum digunakan,

perhatikan pengayak secara saksama dari penyimpangan atau kerusakan, terutama pada sambungan bingkai kasa. Kalibrasi pengayak secara optik untuk mengestimasi rata-rata ukuran awal, dan variabilitas awal dari mesh ayakan. Gunakan *Bola Kaca Standar* untuk evaluasi efektivitas bukaan pengayak pada rentang ukuran 212 - 850 µm. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, lakukan analisis pengayakan dalam suhu ruang terkendali dan kelembaban relatif sekitar.

*Pembersihan Pengayak* Pada umumnya, pengayak harus dibersihkan hanya menggunakan udara jet atau dengan mengalirkan cairan. Jika beberapa lubang tetap tersumbat oleh partikel, sebagai upaya terakhir sikat hati-hati.



**Sampel uji** Jika bobot contoh tidak dinyatakan dalam monografi, gunakan bobot antara 25 dan 100 g, tergantung pada kerapatan ruahan contoh dan gunakan pengayak dengan diameter 200 mm. Untuk pengayak dengan diameter 76 mm, jumlah contoh yang dapat ditampung sekitar 1/7 dari yang dapat ditampung pengayak dengan diameter 200 mm. Tentukan bobot contoh yang paling tepat dari hasil uji pengayakan dengan menimbang saksama dari bobot yang berbeda, seperti 25, 50, dan 100 g, untuk periode waktu yang sama pada pengocok mekanik. [Catatan Jika hasil uji serupa pada contoh dengan bobot 25 g dan 50 g, tetapi contoh dengan bobot 100 g menunjukkan persentase yang lebih rendah melalui pengayak halus, maka ukuran contoh dengan bobot 100 g terlalu banyak.] Jika hanya contoh dengan bobot 10 - 25 g yang tersedia, pengayak dengan diameter lebih kecil dengan spesifikasi mesh yang sama bisa digunakan, tetapi titik akhirnya harus ditentukan ulang. Penggunaan zat uji yang memiliki massa lebih kecil (contoh, kurang dari 5 g) mungkin diperlukan. Untuk zat dengan kerapatan partikel tampak yang rendah, atau untuk zat yang sebagian besar terdiri dari partikel dengan bentuk sangat isodiametrikal, diperlukan bobot contoh di bawah 5 g dengan kasa 200 mm untuk menghindari penahanan berlebih pada pengayak. Selama validasi metode analisis pengayak, diharapkan bahwa masalah penyumbatan pada pengayak ini dapat terlihat.

Jika kadar air contoh cenderung bertambah atau berkurang secara signifikan karena kelembaban yang berubah-ubah, maka uji harus dilakukan dalam ruangan yang dikendalikan dengan tepat. Demikian pula jika contoh diketahui menghasilkan muatan elektrostatik, perlu dipastikan bahwa muatan tersebut tidak mempengaruhi analisis. Untuk meminimalkan efek statis dapat ditambahkan bahan antistatik, seperti silikon dioksida koloidal dan atau aluminium oksida sebanyak 0,5% (b/b). Jika kedua pengaruh tersebut di atas tidak dapat diatasi, maka harus dipilih teknik lain untuk pengukuran partikel.

**Metode agitasi** Beberapa pengayak yang berbeda dan perangkat agitasi serbuk tersedia secara komersial yang semuanya dapat digunakan untuk melakukan analisis pengayakan. Namun, perbedaan metode agitasi dapat memberikan hasil analisis pengayakan dan penentuan titik akhir yang berbeda karena perbedaan jenis dan besarnya gaya yang bekerja pada masing-masing partikel yang diuji. Tersedia metode yang menggunakan agitasi mekanik atau agitasi elektromagnetik, dan yang dapat menginduksi baik mengayun vertikal atau gerakan berputar horizontal, atau ketukkan atau kombinasi ketukkan dengan gerak berputar horizontal. Memasukkan partikel ke dalam aliran udara juga dapat digunakan. Pada hasil harus dinyatakan penggunaan metode agitasi dan parameter agitasi yang digunakan (jika bervariasi), karena perubahan dalam kondisi agitasi akan memberikan hasil yang berbeda untuk analisis pengayakan dan penentuan titik akhir dan dapat menimbulkan kegagalan dalam kondisi tertentu.

**Penentuan Titik Akhir Analisis uji pengayakan** lengkap apabila bobot pada setiap pengayak tidak berubah lebih dari 5% atau 0,1 g (10% dalam kasus ayakan 76 mm) dari berat sebelumnya pada pengayak. Jika hasil pengayakan kurang dari 5% dari berat total contoh, titik akhir untuk pengayak meningkat dengan perubahan bobot tidak lebih dari 20% dari berat sebelumnya pada pengayak tersebut.

Jika lebih dari 50% dari berat total contoh ditemukan pada satu pengayak, kecuali dinyatakan lain dalam monografi, pengujian harus diulang, tetapi dengan penambahan pengayak yang lebih kasar di atas pengayak yang menampung berat lebih dari 50% pada susunan pengayak.

#### **Metode Pengayakan Agitasi Mekanik**

*Metode Pengayakan Kering* Timbang saksama masing-masing pengayak dan panci pengumpul dengan ketelitian 0,1 g. Timbang saksama sejumlah contoh masukkan ke dalam pengayak yang paling atas (yang paling kasar) dan pasang penutup. Agitasi susunan pengayak selama 5 menit. Kemudian dengan hati-hati angkat setiap pengayak dari susunannya tanpa ada contoh yang hilang. Timbang ulang setiap pengayak dan tentukan bobot sampel dalam setiap pengayak. Dengan cara yang sama, tentukan bobot contoh dalam panci pengumpul. Pasang kembali susunan pengayak, dan agitasi selama 5 menit. Angkat dan timbang setiap pengayak seperti cara yang tertera sebelumnya. Ulangi langkah tersebut hingga kriteria titik akhir tercapai (lihat *Penentuan Titik akhir dalam Uji Pengayakan*). Setelah analisis selesai, jumlahkan seluruh bobot contoh. Jumlah susut bobot tidak lebih dari 5% bobot awal.

Ulangi analisis dengan contoh baru, tetapi dengan satu kali pengayakan dengan waktu yang setara dengan gabungan waktu pengayakan di atas. Tetapkan bahwa pengayakan memenuhi syarat untuk penentuan titik akhir, jika titik akhir ini telah divalidasi untuk contoh tertentu, maka pengayakan dengan satu waktu dapat digunakan untuk analisis selanjutnya dengan distribusi ukuran partikel berada dalam variasi normal.

Jika ada partikel yang tertahan pada setiap pengayak merupakan agregat bukan berupa partikel tunggal, penggunaan pengayakan kering secara mekanik tidak mungkin memberikan reproduktibilitas yang baik dan harus menggunakan metode analisis untuk ukuran partikel yang lain.

#### **Metode Entrainment Udara**

*Pengayakan Sifter Sonik dan Udara Jet* Berbagai jenis peralatan komersial yang menggunakan aliran udara saat ini tersedia untuk pengayakan. Sistem yang menggunakan pengayakan tunggal pada suatu waktu disebut sebagai pengayakan udara jet. Sistem ini menggunakan metode pengayakan umum yang sama seperti yang dijelaskan dalam *Metode Pengayakan Kering*, tetapi dengan udara jet terstandar sebagai pengganti mekanisme agitasi normal. Ini membutuhkan rangkaian analisis pengayak tunggal dimulai dari pengayak yang paling halus untuk

memperoleh distribusi ukuran partikel. Pengayakan udara jet sering menggunakan pengayak yang lebih halus dibanding dengan pengayakan kering biasa. Teknik ini lebih sesuai untuk fraksi yang terlalu besar atau terlalu kecil.

Dalam metode pengayakan sonik, gunakan susunan pengayak dan lakukan uji contoh dalam kolom yang berayun secara vertikal di udara mengangkat contoh dan kemudian kembali ke lubang pengayak dengan sejumlah getaran per menit. Jika menggunakan pengayak sonik, dapat mengurangi jumlah contoh sampai 5 g.

Metode pengayakan udara jet dan pengayakan sonik ini berguna untuk serbuk atau granul ketika teknik pengayakan mekanik tidak mampu memberikan hasil yang memuaskan.

Metode ini sangat tergantung pada dispersi serbuk yang sempurna dalam aliran udara. Persyaratan ini sulit dicapai jika metode yang digunakan di bawah batas rentang pengayakan (yaitu, di bawah 75  $\mu\text{m}$ ), jika partikel cenderung lebih kohesif, terutama dengan adanya kecenderungan dari zat tersebut menghasilkan muatan elektrostatis. Untuk keadaan di atas penetapan titik akhir sangat kritis dan sangat penting untuk memastikan bahwa contoh yang lebih besar terdiri dari partikel tunggal dan bukan berupa agregat.

**Interpretasi Data** mentah harus meliputi bobot contoh, total waktu pengayakan, metode pengayakan yang tepat, pengaturan nilai untuk setiap variabel parameter, serta bobot contoh yang tertahan pada setiap pengayak dan dalam panci pengumpul. Data mentah dapat dengan mudah diubah menjadi distribusi bobot kumulatif. Jika ingin menyatakan distribusi bobot rendah kumulatif, rentang pengayak yang digunakan harus mencakup pengayak yang dapat dilalui oleh semua contoh. Jika selama proses pengayakan terbentuk agregat dari contoh yang tertinggal dalam pengayak, analisis tersebut tidak valid.

## IDENTIFIKASI SERAT <841>

### Ruangan Terkondisi

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, kondisi ruangan untuk pengujian adalah pada suhu 18° - 22° dengan kelembaban relatif 60% - 70%.

### Penyiapan Sediaan

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi sediaan yang akan diuji bobot, jumlah benang per satuan luas, beban regang minimum dan daya serap, sebelum diuji harus dilepaskan dari gulungan, didiamkan selama tidak kurang dari 24 jam dalam ruang terkondisi seperti tertera di atas dan diuji pada kondisi yang sama.

## Identifikasi Serat

### KATUN

A. Jika diamati di bawah mikroskop, tiap serat terdiri dari sel tunggal, dengan panjang sampai lebih kurang 4 cm dan lebar sampai lebih kurang 40  $\mu\text{m}$ , berbentuk pipa pipih dengan dinding tebal dan bulat dan sering membelit.

B. Dengan *zink klorida LP* teriodinasi, serat menjadi ungu.

C. Serat larut dalam *asam sulfat P 66%*. Mengembang secara merata kecuali isi lumen, larut dalam *tembaga(II) oksida amonia LP*. Tidak larut dalam *natrium hidroksida 1,25 N*.

D. Pada 600 mg zat tambahkan 10 ml *zink klorida LP*, panaskan sampai suhu 40° dan diamkan selama 2,5 jam, kocok sekali-sekali: serat tidak melarut.

### VISKOSA

Bila pada pengujian identifikasi serat dipakai istilah viskosa yang dimaksudkan adalah viskosa mengkilat atau viskosa tidak mengkilat.

#### *Viskosa mengkilat*

A. Jika dalam keadaan kering diamati di bawah mikroskop, serat terlihat terdiri dari lebar yang seragam dan garis-garis membujur paralel yang tersebar tidak sama di daerah lebar. Pada ujung potongan gumpalan bentuknya agak lurus. Pada potongan melintang, terlihat bentuk seperti lingkaran atau elips dengan diameter lebih kurang 10 - 20  $\mu\text{m}$ : permukaan serat kelihatan tidak rata.

B. Jika dilihat di bawah mikroskop, dalam *kloralhidrat LP* dan dalam *laktofenol P* serat terlihat jelas, dalam *kresol P* hampir tidak terlihat dan jika diamati antara polaritas silang dalam posisi ortogonal juga tidak terlihat.

C. Dengan *zink klorida LP*, serat menjadi ungu.

D. Larutkan residu yang diperoleh dari sisa pemijaran dalam 5 ml *asam sulfat P*, dengan sedikit pemanasan, biarkan dingin dan tambahkan hati-hati 0,2 ml larutan *hidrogen peroksida P 3,0%*: tidak terjadi warna kuning jingga.

E. Rendam dalam *iodum LP* beberapa menit, buang kelebihan pereaksi dengan menggunakan kertas saring dan tambahkan 0,05 - 0,1 ml *asam sulfat P 66%*: serat berwarna biru.

F. Tambahkan larutan *floroglusinol P 0,1%* dalam *etanol P 90%*, kemudian tambahkan *asam klorida P*: serat tidak berwarna merah.

G. Serat larut dalam *asam sulfat P 66%*. Mengembang dan larut dalam *tembaga(II) oksida amonia LP*. Tidak larut dalam *asam format P* dan hampir tidak larut dalam *natrium hidroksida 1,25 N*.

H. Pada 100 mg serat tambahkan 10 ml *zink klorida LP*, panaskan pada suhu 40° dan biarkan selama 2,5 jam sambil sekali-sekali dikocok: serat larut sempurna.

#### *Viskosa tidak mengkilat*

Lakukan seperti tertera pada identifikasi *Viskosa mengkilat* dengan modifikasi A dan B. Bila dilihat di bawah mikroskop, serat terdiri dari partikel berbentuk granul dengan diameter rata-rata 0,25 - 1  $\mu\text{m}$ .

- A. Dengan penambahan *hidrogen peroksida LP*: terjadi warna kuning jingga.
- B. Partikel berbentuk granul tidak larut.

### INDEKS PENGEMBANGAN <851>

Indeks pengembangan adalah volume dalam ml yang ditempati oleh 1 g obat, termasuk musilago yang menempel, setelah mengembang di dalam cairan yang mengandung air selama 4 jam.

Masukkan 1 g obat, seutuhnya atau zat dengan derajat kehalusan seperti tertera dalam masing-masing monografi, ke dalam gelas ukur bersumbat kaca asah 25 ml berskala, tinggi 120 - 130 mm dengan pembagian skala 0,5 ml. Kecuali dinyatakan lain, basahi obat dengan 1,0 ml *etanol P* (96%), tambahkan 25 ml air dan tutup gelas ukur. Kocok kuat-kuat setiap 10 menit selama 1 jam dan diamkan selama 3 jam. Satu setengah jam setelah pengujian dimulai, hilangkan sebanyak mungkin volume cairan yang tertinggal dalam lapisan obat dan setiap partikel obat yang mengapung pada permukaan cairan dengan cara memutar gelas ukur mengelilingi sumbu tegak. Ukur volume yang ditempati obat, termasuk musilago yang menempel. Lakukan tiga kali pengujian penetapan pada waktu yang sama. Hitung indeks pengembangan dari rata-rata tiga kali pengujian tersebut.

### ISI MINIMUM <861>

Pengujian dan spesifikasi berikut digunakan untuk sediaan krim, gel, jeli, salep, pasta, serbuk dan aerosol termasuk semprot topikal bertekanan dan tak bertekanan serta inhalasi dosis terukur yang dikemas dalam wadah dengan etiket yang mencantumkan bobot bersih tidak lebih dari 150 g atau 150 ml.

*Prosedur untuk sediaan bukan aerosol* Untuk wadah yang diberi etiket bobot, ambil 10 wadah, hilangkan semua etiket yang dapat mempengaruhi bobot pada waktu isi wadah dikeluarkan. Bersihkan dan keringkan dengan sempurna bagian luar wadah dengan cara yang sesuai dan timbang satu per satu. Keluarkan isi secara kuantitatif dari masing-masing wadah, potong ujung wadah, jika perlu cuci dengan pelarut yang sesuai, hati-hati agar tutup dan bagian lain wadah tidak terpisah. Keringkan dan timbang kembali masing-masing wadah kosong beserta bagian-bagiannya. Perbedaan antara kedua penimbangan adalah bobot bersih isi wadah. Untuk wadah yang diberi etiket volume, tuangkan isi dari 10 wadah ke dalam 10 gelas ukur yang sesuai. Catat volume dari masing-masing isi wadah. Volume bersih rata-rata isi dari 10 wadah tidak kurang dari volume yang tertera pada etiket dan volume bersih dari masing-masing wadah tidak kurang dari 90% dari jumlah seperti tertera pada etiket jika pada etiket tertera 60 g atau 60 ml atau kurang. Untuk etiket dengan bobot tertera lebih dari 60 g atau 60 ml, tetapi tidak lebih dari 150 g atau 150 ml, volume bersih dari masing-masing wadah tidak kurang dari 95%

dari jumlah yang tertera pada etiket. Jika persyaratan ini tidak dipenuhi, tetapkan isi bersih dari 20 wadah tambahan. Rata-rata isi dari 30 wadah tidak kurang dari jumlah yang tertera pada etiket dan hanya satu wadah dari 30 wadah yang isinya kurang dari 90 % dari jumlah yang tertera pada etiket untuk bobot 60 g atau 60 ml atau kurang atau tidak kurang dari 95% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk bobot lebih dari 60 g atau 60 ml tetapi tidak lebih dari 150 g atau 150 ml.

*Prosedur untuk aerosol* Ambil 10 wadah, hilangkan semua etiket yang dapat mempengaruhi bobot, pada waktu isi wadah dikeluarkan. Bersihkan dan keringkan dengan sempurna bagian luar wadah dengan cara yang sesuai, dan timbang satu persatu. Keluarkan isi tiap wadah menggunakan cara yang aman, misalnya dengan pendinginan untuk mengurangi tekanan dalam wadah, buka katup dan tuang. Keluarkan isi yang tertinggal dengan pelarut yang sesuai, kemudian bilas dengan sejumlah kecil *metanol P*. Panaskan wadah, katup, dan bagian lain wadah pada suhu 100° selama 5 menit. Dinginkan dan timbang kembali tiap wadah beserta bagiannya. Perbedaan antara penimbangan pertama dan penimbangan wadah kosong adalah bobot bersih isi wadah. Persyaratan dipenuhi jika bobot bersih isi masing-masing 10 wadah yang diuji tidak kurang dari jumlah yang tertera pada etiket.

### JUMLAH BENANG PER SATUAN PANJANG <871>

#### Pembalut Tidak Meregang

##### Metode I

Tetapkan jumlah benang per 10 cm atau jika tidak memungkinkan lakukan pada jarak terpanjang sediaan yang diuji. Jika ukuran atau jumlah unit yang tersedia memungkinkan, ulangi pengujian pada tidak kurang dari 4 posisi lainnya yang dipilih dan mewakili sediaan yang diuji. Kecuali dinyatakan lain pada monografi, hitung jumlah rata-rata benang per 10 cm.

##### Metode II

Tetapkan jumlah benang per 2,5 cm dengan alat yang sesuai. Jika ukuran atau jumlah unit yang tersedia memungkinkan, ulangi pengujian pada tidak kurang dari 4 posisi lainnya yang dipilih dan mewakili sediaan yang diuji. Kecuali dinyatakan lain pada monografi, hitung jumlah rata-rata benang per 10 cm.

##### Metode III

Tetapkan jumlah seluruh benang arah memanjang dalam bahan yang tidak meregang dan ukur lebar bahan dihitung dari kedua sisi yang berlawanan. Jika jumlah satuan yang tersedia memungkinkan, ulangi pengujian menggunakan tidak kurang dari 4 satuan lain yang dipilih dan mewakili sediaan yang diuji. Kecuali dinyatakan lain

dalam monografi, hitung jumlah benang rata-rata per 10 cm.

#### Metode IV

Tetapkan jumlah benang arah memanjang dan arah melebar pada 3 tempat dengan luas 10 cm x 10 cm. Hitung jumlah benang rata-rata 10 cm arah memanjang dan arah melebar.

Jika lebar bahan lebih kecil dari 10 cm, hitung jumlah benang pada seluruh lebar dan hitung jumlah benang per 10 cm berdasarkan lebar yang tertera pada etiket. Jika lebar sediaan lebih besar dari 10 cm, bagian benang yang tidak tertunen dengan sempurna tidak dihitung.

#### Pembalut Meregang Sempurna

Tetapkan jumlah benang ke arah memanjang pada bahan yang meregang sempurna dengan memberikan beban ke arah melebar 10 N per cm lebar (lebih kurang 1,07 kgf per cm lebar).

Tetapkan jumlah benang ke arah melebar pada saat sediaan meregang sempurna dengan memberikan beban ke arah memanjang 10 N per cm lebar (lebih kurang 1,07 kgf tiap cm lebar). Hitung jumlah benang sepanjang 10 cm. Kecuali jika per cm terdapat 10 benang atau lebih, lakukan penghitungan sepanjang 2,5 cm menggunakan alat yang sesuai. Jika pengukuran bahan tidak mungkin dilakukan pada jarak 10 cm, gunakan ukuran terbesar yang dapat dilakukan. Jika ukuran atau jumlah satuan yang tersedia memungkinkan ulangi pengujian tidak kurang dari 4 posisi lainnya yang dipilih dan mewakili sediaan yang diuji. Kecuali dinyatakan lain pada monografi, hitung jumlah rata-rata benang per 10 cm.

### KARBON ORGANIK TOTAL <875>

Karbon Organik Total (KOT) adalah suatu pengukuran tidak langsung molekul organik yang ada pada air untuk farmasi yang diukur sebagai karbon. Molekul organik masuk ke dalam air berasal dari sumber air, dari sistem pemurnian dan distribusi bahan dan dari biofilm yang tumbuh dalam sistem. KOT dapat digunakan sebagai kendali proses untuk mengawasi kinerja unit operasi dalam sistem pemurnian dan distribusi air. Pengukuran KOT tidak dapat menggantikan uji endotoksin atau mikrobiologi. Sementara itu, ada hubungan kualitatif antara sumber makanan dan aktivitas mikrobiologi tetapi tidak ada hubungan langsung secara kuantitatif.

Ada sejumlah metode yang dapat digunakan untuk menganalisis KOT. Bab ini tidak bermaksud menganjurkan, membatasi atau mencegah penggunaan teknologi, tetapi merupakan pedoman untuk menilai teknologi tersebut melalui interpretasi hasil pengujian peralatan yang digunakan sebagai uji batas.

Alat yang umumnya digunakan untuk penetapan KOT dalam air untuk farmasi biasanya digunakan dengan tujuan mengoksidasi molekul organik dalam air untuk menghasilkan karbon dioksida diikuti dengan pengukuran

jumlah karbon dioksida yang terbentuk dalam air. Kemudian jumlah karbon dioksida tersebut ditetapkan sebagai kadar karbon organik total dalam air.

Semua teknologi harus dapat membedakan antara karbon anorganik yang mungkin ada dalam air berasal dari sumber seperti CO<sub>2</sub> terlarut dan bikarbonat, dan CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari oksidasi molekul organik dalam contoh. Perbedaan dapat ditunjukkan baik dengan menetapkan karbon anorganik dan mengurangi dari karbon total (karbon total merupakan jumlah karbon organik dan karbon anorganik) atau dengan menghilangkan karbon anorganik dari contoh sebelum dioksidasi. Pada waktu menghilangkan karbon anorganik kemungkinan sebagian kecil molekul karbon organik dalam air untuk farmasi yang ikut terbuang dapat diabaikan.

**Persyaratan Peralatan** Metode uji ini dilakukan baik sebagai uji langsung atau tidak langsung di laboratorium menggunakan alat terkalibrasi. Kesesuaian alat harus ditunjukkan secara berkala seperti dijelaskan di bawah ini. Sebagai tambahan, batas deteksi spesifik dari pabrik pembuat harus 0,05 mg karbon per liter (0,05 bpj karbon) atau dibawahnya.

Jika pengujian air untuk keperluan pengawasan mutu, pastikan bahwa alat dan data berada di bawah pengawasan yang memadai. Metode dan lokasi pengambilan contoh untuk pengukuran langsung maupun tidak langsung harus dapat menggambarkan kualitas air yang digunakan. Produksi, distribusi dan penggunaan air mempengaruhi pemilihan metode pengukuran secara langsung atau tidak langsung.

**Baku Perbandingan** 1,4-Benzokuinon BPF<sub>I</sub>; Sukrosa BPF<sub>I</sub>.

**Air** Gunakan air yang memiliki tingkat KOT tidak lebih dari 0,1 mg per liter. [Catatan Persyaratan konduktivitas mungkin diperlukan untuk memastikan kehandalan metode.]

**Wadah** Kontaminasi bahan organik dari wadah dapat menghasilkan nilai KOT yang tinggi. Oleh karena itu, gunakan alat gelas atau wadah contoh yang telah dibersihkan secara sempurna dari residu organik. Metode apapun yang secara efektif mampu menghilangkan bahan organik dapat digunakan, seperti tertera pada *Pencucian Peralatan Kaca <1331>*. Gunakan *Air* untuk pembilasan akhir.

**Larutan Baku** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, timbang saksama sejumlah *Sukrosa BPF<sub>I</sub>*, larutkan dalam *Air*, hingga kadar lebih kurang 1,19 mg per liter (0,50 mg karbon per liter).

**Larutan Kesesuaian Sistem Timbang** saksama sejumlah *1,4-Benzokuinon BPF<sub>I</sub>*, larutkan dalam *Air*, hingga kadar lebih kurang 0,75 mg per liter (0,50 mg karbon per liter).

**Kendali untuk Air** Gunakan sejumlah tertentu *Air* yang sama dengan yang digunakan pada pembuatan *Larutan Baku* dan *Larutan Kesesuaian Sistem*.

**Larutan Uji** Gunakan contoh air yang diperoleh secara langsung maupun tidak langsung yang sesuai dan dapat mewakili kualitas air yang digunakan.

**Larutan Kendali Lain** Siapkan sejumlah larutan pereaksi blangko atau larutan spesifik lainnya yang diperlukan untuk menetapkan garis dasar alat atau penyesuaian kalibrasi dengan mengikuti instruksi dari pabrik pembuat, dan lakukan pengukuran blangko untuk mendapat nilai nol alat.

**Kesesuaian Sistem** Lakukan pengujian *Kendali untuk Air* pada alat dan rekam respons,  $r_w$ . Ulangi pengujian menggunakan *Larutan Baku* dan rekam respons,  $r_s$ . Hitung respons *Larutan Baku* yang telah dikoreksi, yang merupakan batas respons, dengan mengurangi respons *Kendali untuk Air* dari respons *Larutan baku*. Batas teoritis 0,50 mg karbon per liter setara dengan respons *Larutan Baku* terkoreksi,  $r_s - r_w$ . Uji *Larutan Kesesuaian Sistem* dalam alat dan rekam respons,  $r_{ss}$ . Hitung respons *Larutan Kesesuaian Sistem* terkoreksi dengan mengurangi respons *Kendali untuk Air* dengan respons *Larutan Kesesuaian Sistem*,  $r_{ss} - r_w$ . Hitung persentase efisiensi respons *Larutan Kesesuaian sistem* dengan rumus:

$$100 \left[ \frac{(r_{ss} - r_w)}{r_s - r_w} \right]$$

Sistem ini sesuai jika efisiensi respons tidak kurang dari 85% dan tidak lebih dari 115% respons teoritis.

**Prosedur** Lakukan uji pada *Larutan Uji* dan rekam respons,  $r_U$ . *Larutan Uji* memenuhi syarat jika  $r_U$  tidak lebih dari batas respons  $r_s - r_w$ . Metode ini dapat dilakukan menggunakan alat langsung atau tidak langsung yang memenuhi *Persyaratan Peralatan*.

## KEJERNIHAN DAN WARNA LARUTAN <881>

### A. Kejernihan Larutan Metode Visual

Lakukan penetapan menggunakan tabung reaksi alas datar dengan diameter dalam 15 - 25 mm, tidak berwarna, transparan dan terbuat dari kaca netral. Bandingkan larutan uji dengan larutan *suspensi padanan* yang dibuat segar, setinggi 40 mm. Bandingkan kedua larutan di bawah cahaya yang terdifusi 5 menit setelah pembuatan *suspensi padanan* dengan tegak lurus ke arah bawah tabung menggunakan latar belakang berwarna hitam. Difusi cahaya harus sedemikian rupa sehingga *suspensi padanan I* dapat dibedakan dari air dan *suspensi padanan II* dapat dibedakan dari *suspensi padanan I*. Larutan dianggap jernih apabila sama dengan air atau larutan yang

digunakan dalam pengujian dengan kondisi yang dipersyaratkan, atau jika opalesen tidak lebih dari *suspensi padanan I*.

**Larutan hidrazin sulfat** Larutkan dan encerkan 1,0 g *hidrazin sulfat P* hingga 100 ml dengan air, biarkan selama 4 - 6 jam.

**Larutan heksametilentetramin.** Larutkan 2,5 g *heksametilentetramin P* dalam labu bersumbat kaca 100,0 ml dengan 25,0 ml air.

**Suspensi opalesen primer (suspensi formazin)** Dalam wadah yang berisi *Larutan heksametilen- tetramin* tambahkan 25,0 ml *Larutan hidrazin sulfat*. Aduk dan biarkan selama 24 jam. Larutan stabil selama 2 bulan, jika disimpan dalam wadah kaca bebas dari kerusakan permukaan. Suspensi tidak boleh menempel di kaca dan harus dikocok bila akan dipergunakan.

**Baku opalesense** Encerkan 15,0 ml *Larutan opalesen primer* dengan air sampai 1000,0 ml. Larutan harus dibuat baru dan dapat digunakan 24 jam setelah pembuatan.

**Suspensi padanan** Siapkan *suspensi padanan* seperti *Table 1*. Kocok dan aduk sebelum digunakan.

Tabel 1

	I	II	III	IV
Baku opalesen	5,0 ml	10, ml	30,0 ml	50,0 ml
Air	95,0 ml	90,0 ml	70,0 ml	50,0 ml

**Baku kekeruhan.** Siapkan *suspensi formazin* dengan mencampurkan *Larutan hidrazin sulfat* dengan *Larutan heksametilentetramin* dalam jumlah yang sama dan ditetapkan sebagai baku padanan primer 4000 NTU (*Nefelometri Turbidity Units*). *Larutan padanan I, II, III* dan *IV* masing-masing memiliki nilai 3 NTU, 6 NTU, 18 NTU dan 30 NTU. Penstabil *suspensi formazin* yang dapat digunakan untuk menjaga kestabilan, baku kekeruhan encer tersedia secara komersial dan dapat dipergunakan setelah dibandingkan dengan baku yang dibuat seperti yang telah dijelaskan. *Formazin* memiliki beberapa karakteristik yang diinginkan sebagai baku kekeruhan yang baik. Jika ingin mendapatkan pengulangan yang baik siapkan dari bahan baku uji. Karakteristik fisika membuatnya menjadi baku kalibrasi. Polimer *formazin* disusun dari rantai panjang yang berbeda yang berlipat menjadi susunan acak. Hasil ini berada dalam rentang uji yang lebar dari bentuk dan ukuran partikel, yang secara analitik cocok dengan kemungkinan ukuran dan bentuk partikel yang berbeda ditemukan dalam contoh nyata. Oleh karena reproduktibilitas *formazin*, karakteristik hamburan dan mampu telusur, maka algoritma kalibrasi instrumen dan kriteria kinerja sebagian besar didasarkan pada baku ini.

## Metode Instrumental Pendahuluan

Tingkat dari opalesense dapat diterangkan dengan pengukuran menggunakan instrumental dari cahaya yang diserap atau disebarkan pada jumlah kepadatan optik submikroskopis yang tidak homogen dari larutan opalesen dan suspensi. Dua bagian dari teknik tersebut adalah nefelometri dan turbidimetri. Untuk pengukuran kekeruhan dari warna contoh, dapat digunakan pemilihan rasio turbidimetri dan nefelometri. Efek dari penghamburan cahaya dari partikel suspensi dapat diukur dengan mengamati cahaya yang ditransmisikan (turbidimetri) atau cahaya yang dihamburkan (nefelometri). Perbandingan turbidimetri adalah kombinasi antara nefelometri dan turbidimetri. Turbidimetri dan nefelometri berguna untuk pengukuran dari sedikit suspensi opalesen. Pembuatan suspensi padanan haruslah dengan kondisi yang baik. Untuk pengukuran kuantitatif, perlu digunakan kurva kalibrasi, hubungan antara karakteristik optik dari suspensi dan kadar fase yang terdispersi pada semi-empirik terbaik.

Penentuan opalesen dari warna larutan dilakukan berdasarkan perbandingan turbidimeter atau nefelometer dengan cara pemilihan perbandingan, karena warna dapat menimbulkan gangguan negatif, melemahkan kedua kejadian, menghamburkan cahaya dan menurunkan nilai kekeruhan. Efeknya begitu besar untuk contoh berwarna dimana nephelometer konvensional tidak dapat digunakan.

Pengukuran kejernihan dan opalesen dengan instrumen memberikan lebih banyak uji pengecualian yang tidak akan muncul pada analisa secara visual. Hasil berupa angka lebih banyak dipakai dalam pengamatan kualitas dan proses pengawasan, terutama dalam stabilitas. Sebagai contoh, sebelum data angka dalam stabilitas diproyeksikan untuk penentuan apakah ukuran dari perumusan atau kandungan aktif akan melampaui batas *shelf-life* dari waktu kedaluarsa.

## Nefelometri

Ketika larutan memberikan gambaran pada sudut kanan dari arah jatuhnya cahaya, sistem opalesen akan menghadap ke arah bayangan dari partikel larutan (efek *Tyndall*). Pasti sebagian sorot cahaya masuk, sebagian dari kekeruhan larutan dipancarkan, sebagian lainnya diabsorpsi dan sebagian dihamburkan oleh partikel suspensi. Jika ukuran lebar cahaya dibuat  $90^\circ$  dari lebar cahaya, maka cahaya yang dihamburkan oleh partikel suspensi akan dipergunakan untuk menentukan kadar, penyajian angka dan ukuran partikel berpengaruh terhadap sisa tersebar. Suspensi padanan harus mempertahankan tingkat kekeruhan yang tetap konstan, contoh dan suspensi padanan harus disiapkan dengan kondisi yang sama. Efek *Tyndall* tergantung pada jumlah dan ukuran partikel. Pengukuran nefelometri lebih dapat diandalkan pada jarak kekeruhan yang rendah, karena pada kondisi tersebut terdapat hubungan yang linear antara nilai *Nefelometric Turbidity Unit* (NTU) dengan signal relatif detektor. Tingkat kekeruhan meningkat, tidak semua partikel terpapar bersama cahaya dan radiasi

tersebar dari partikel lain menghalangi jalannya menuju ke detektor. Nilai terbesar dari nefelometri, dimana pengukuran dapat diandalkan dibuat pada batas 1750 - 2000 NTU. Linearitas ditunjukkan dengan membuat kurva kalibrasi menggunakan sekurang-kurangnya 4 titik konsentrasi.

## Kekeruhan

Sifat-sifat optik yang dinyatakan sebagai kekeruhan adalah interaksi antara cahaya dan partikel dalam cairan. Hal ini merupakan pernyataan dari peralatan optik yang menyebabkan cahaya lebih dihamburkan dan diserap dari pada ditransmisikan secara lurus melalui contoh. Jumlah materi padat dalam suspensi dapat ditentukan dengan pengukuran cahaya yang ditransmisikan. Hubungan linear antara kekeruhan dan kadar diperoleh ketika di dalam suspensi terdapat ukuran partikel yang seragam dan homogen. Hal ini hanya berlaku di dalam suspensi yang sangat encer yang mengandung partikel kecil. Linieritas antara kekeruhan dan kadar didapatkan dengan membuat kurva kalibrasi menggunakan sekurang-kurangnya 4 titik konsentrasi.

## Perbandingan kekeruhan

Dalam perbandingan kekeruhan, hubungan dari perhitungan transmisi untuk pengukuran cahaya yang dihamburkan sebesar  $90^\circ$  dapat ditentukan. Prosedur ini digunakan untuk cahaya yang berkurang oleh warna contoh. Pengaruh warna contoh harus dihilangkan dengan menggunakan *Infrared Light-Emitted Diode (IR LED)* pada 860 nm dari sumber cahaya alat. Instrumen dengan detektor fotodiode menerima dan mengukur hamburan cahaya pada sudut  $90^\circ$  dari contoh serta mengukur hamburan kedepan (cahaya yang dipantulkan) pada bagian depan sampel secara terus menerus dengan mengukur cahaya yang ditransmisikan langsung melalui sampel. Hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan NTU (perbandingan) yang diperoleh dengan menghitung perbandingan hamburan cahaya pada sudut  $90^\circ$  cahaya dari hamburan cahaya yang diukur terhadap penjumlahan komponen dari hamburan ke depan dan nilai cahaya yang ditransmisikan. Pada perbandingan turbidimetri pengaruh cahaya menyimpang dapat diabaikan. Nefelometer digunakan untuk mengukur tingkat opalesen dari warna larutan.

Pengukuran suspensi padanan I - IV dengan perbandingan turbidimeter ditunjukkan dalam hubungan linear antara kadar dan nilai NTU. Suspensi padanan I - IV dapat digunakan sebagai kalibrator untuk instrumen.

Tabel 2

Suspensi Formazin	Nilai opalesen (NTU)
Suspensi padanan I	3
Suspensi padanan II	6
Suspensi padanan III	18
Suspensi padanan IV	30
Baku opalesen	60
Suspensi opalesen primer	4000

### Penentuan Opalesen dengan instrumen

Persyaratan dalam monografi dinyatakan dalam metode pemeriksaan visual dengan suspensi padanan. Metode instrumen akan dipergunakan untuk menentukan kepatuhan dengan persyaratan monografi, salah satunya adalah kesesuaian dari instrumen yang diuraikan di bawah antara tetapan dan kalibrasi dengan suspensi padanan I - IV dan dengan air atau dengan pelarut yang digunakannya.

### Peralatan

Rasio turbidimeter atau nephelometer dengan pemilihan aplikasi rasio menggunakan sumber cahaya lampu tungsten dengan sensitifitas spektra antara 550 nm yang beroperasi pada filament warna bersuhu 2700 K, atau IR LED yang memiliki emisi maksimal pada 860 nm dengan panjang gelombang spektra 60 nm. Dapat juga dipergunakan sumber cahaya lainnya yang sesuai. *Photodiode silicon* dan *photomultiplier* biasanya digunakan sebagai detektor dan pencatat perubahan di dalam hamburan cahaya atau transmisi oleh contoh. Hamburan cahaya pada  $90 \pm 2,5^\circ$  dideteksi oleh detektor pertama. Detektor lainnya mendeteksi kembali dan meneruskan hamburan cahaya sebagai cahaya transmisi. Instrumen yang digunakan dikalibrasi lagi dengan baku untuk mengetahui kekeruhan dan mampu dengan segera menentukan kekeruhan. Hasil uji dinyatakan dalam NTU yang diperoleh dari instrumen dan membandingkan perinciannya dengan masing-masing monografi. Instrumen yang digunakan memiliki spesifikasi yang sesuai.

- Unit pengukuran: NTU adalah dasar kekeruhan dari baku padanan primer formazin. FTU (*Formazin Turbidity Units*) atau FNU (*Formazin Nephelometry Units*) juga dapat digunakan dan ekuivalen dengan NTU pada daerah rendah (di atas 40 NTU). Satuan ini dipakai dalam semua metode yang dipergunakan (nefelometri, turbidimetri dan perbandingan kekeruhan)
- Batas pengukuran : 0,01 – 1100 NTU
- Resolusi : 0,01 NTU di dalam batas 0 – 10 NTU; 0,1 NTU di dalam batas 10 - 100 NTU, dan 1 NTU untuk batas > 100 NTU. Instrumen dikalibrasi dan dikontrol dengan baku padanan formazin.
- Akurasi NTU:  $\pm$  ( 2% dari pembacaan + 0,01) NTU. 10 - 1000 NTU:  $\pm$  5%.
- Repetabiliti : 0 - 10 NTU:  $\pm$  0,01 NTU. 10 - 1000 NTU:  $\pm$  2 persen dari nilai perhitungan.
- Kalibrasi: menggunakan 4 suspensi padanan dari formazin dalam batas yang disesuaikan dengan tujuan. Suspensi padanan diuraikan dalam bab ini atau dilakukan kalibrasi ulang pada baku padanan yang sesuai dengan menggunakan suspensi padanan primer.
- Cahaya sesatan: adalah sumber kesalahan yang berarti dalam perhitungan kekeruhan tingkat rendah, cahaya sesatan mencapai detektor dari sistem optik, tetapi tidak sampai terhadap contoh, < 0,15 NTU

untuk rentang 0 - 10 NTU, < 0,5 NTU untuk rentang 10 - 1000 NTU.

Karakteristik instrumen sesuai persyaratan di atas dan diverifikasi menggunakan suspensi padanan dan diuraikan dengan metode visual yang dapat digunakan sebagai pengganti pemeriksaan visual untuk penentuan ketepatan dengan persyaratan monografi. Peralatan dengan batas atau resolusi, akurasi dan kemampuan pengulangan selain dari yang disebutkan di atas dapat dipergunakan bila telah divalidasi dan mampu untuk penggunaan yang dimaksudkan. Metode pengujian untuk zat atau produk harus divalidasi untuk menunjukkan kemampuan analisis. Peralatan dan metode harus konsisten dengan sifat dari produk yang diuji.

## KERAPATAN SERBUK RUAHAN DAN SERBUK MAMPAT <891>

### Kerapatan Serbuk Ruahan

Kerapatan serbuk ruahan adalah perbandingan antara massa serbuk yang belum dimampatkan terhadap volume termasuk kontribusi volume pori antarpartikel. Oleh karena itu, kerapatan serbuk ruahan tergantung pada kepadatan partikel serbuk dan susunan partikel serbuk. Satuan internasional kilogram per meter kubik ( $1 \text{ g/ml} = 1000 \text{ kg/m}^3$ ), karena pengukuran dilakukan dengan menggunakan gelas ukur maka kerapatan serbuk ruahan dinyatakan dalam gram per ml ( $\text{g/ml}$ ). Hal ini dapat juga dinyatakan dalam gram per sentimeter kubik ( $\text{g/cm}^3$ ). Sifat dari kerapatan serbuk tergantung pada penanganannya seperti persiapan, perlakuan dan penyimpanan. Partikel-partikel dapat dikemas untuk memiliki berbagai kerapatan serbuk ruahan, tetapi sedikit gangguan pada serbuk dapat menyebabkan perubahan pada kerapatan serbuk ruahan. Keberulangan pengukuran yang baik sering kali sulit diperoleh sehingga dalam pelaporan hasil harus dinyatakan secara rinci bagaimana pengukuran tersebut dilakukan. Kerapatan serbuk ruahan ditetapkan dengan mengukur volume contoh serbuk yang telah diayak dan diketahui bobotnya kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur (Metode I) atau menimbang massa serbuk yang telah diketahui volumenya menggunakan volumeter ke dalam sebuah cawan (Metode II) atau pengukuran dengan bejana pengukur (Metode III).

Metode I dan Metode III lebih disukai.

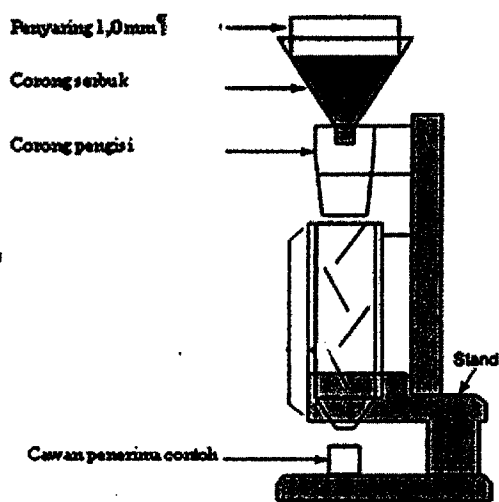
### Metode I - Pengukuran Menggunakan Gelas Ukur

Prosedur Sejumlah serbuk yang mencukupi untuk pengujian jika perlu diayak dengan ayakan yang memiliki lubang ayakan yang lebih besar atau sama dengan 1,0 mm untuk memecah gumpalan yang mungkin terbentuk selama penyimpanan; hal ini harus dilakukan secara perlahan untuk mencegah perubahan sifat materi. Timbang saksama lebih kurang 100 g serbuk yang telah diayak, (M), dengan tingkat akurasi 0,1%, masukkan ke

dalam gelas ukur 250 ml (dengan skala terkecil 2 ml), tanpa pemampatan. Ratakan permukaan serbuk dengan hati-hati tanpa dimampatkan jika perlu, dan bacalah volume yang terlihat ( $V_0$ ) ke skala terdekat. Hitung kerapatan ruahan dalam g/ml dengan rumus  $M/V_0$ . Lakukan pengukuran secara berulang. Jika kepadatan serbuk terlalu rendah atau terlalu tinggi, sehingga contoh uji memiliki volume yang belum dimampatkan lebih dari 250 ml atau kurang dari 150 ml, tidak dimungkinkan untuk menggunakan 100 g contoh serbuk. Oleh karena itu, jumlah serbuk yang berbeda harus dipilih sebagai contoh uji, sehingga volume serbuk yang belum dimampatkan berada diantara 150 - 250 ml (volume lebih besar atau sama dengan 60% dari volume gelas ukur); bobot serbuk uji yang digunakan dicantumkan dalam hasil. Untuk serbuk yang memiliki volume antara 50 ml dan 100 ml, gunakan gelas ukur 100 ml dengan skala 1 ml; volume gelas ukur yang digunakan dicantumkan dalam hasil.

**Metode II - Pengukuran Menggunakan Volumeter**

**Peralatan Alat** (Gambar 1) terdiri dari corong pada bagian atas yang dilengkapi dengan ayakan 1,0 mm<sup>1</sup>. Corong yang terpasang di atas kotak penyekat berisi empat lempeng penyekat kaca dimana serbuk meluncur dan terpental saat melewatinya. Pada bagian bawah kotak penyekat terdapat corong yang mengumpulkan serbuk dan memungkinkan untuk dituang ke dalam cawan dengan kapasitas tertentu yang dipasang langsung di bawahnya. Cawan bisa berbentuk silinder (volume 25,00±0,05 ml dengan diameter dalam 30,00±2,00 mm) atau persegi (volume 16,39±0,2 ml dengan dimensi dalam 25,4±0,076 mm).



Gambar 1

**Prosedur** Alirkan serbuk dalam jumlah berlebih melalui alat tersebut ke dalam wadah penampung (yang telah ditara) sampai melimpah. Gunakan wadah penampung dengan volume minimum 25 cm<sup>3</sup> untuk bentuk persegi dan 35 cm<sup>3</sup> untuk bentuk silinder. Hati-hati mengikis kelebihan serbuk dari atas wadah yaitu dengan cara gerakan perlahan pinggiran spatula yang

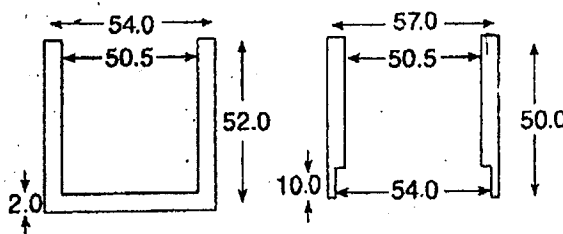
tajam secara tegak lurus dengan permukaan atas wadah itu, pertahankan posisi spatula tegak lurus guna menjaga kemasan atau mengikis serbuk dari wadah. Bersihkan dinding luar wadah dan tentukan bobot, M, dari serbuk dengan tingkat akurasi 0,1%. Hitung kerapatan ruahan, dalam g per ml, dengan rumus:

$$\frac{M}{V_0}$$

$V_0$  adalah volume wadah dalam ml. Hitung rata-rata dari tiga pengukuran menggunakan tiga contoh serbuk yang berbeda.

**Metode III Pengukuran Menggunakan Bejana Pengukur**

**Peralatan** Alat terdiri dari sebuah bejana pengukur silinder tahan karat berukuran 100-ml dengan ukuran yang ditetapkan seperti pada Gambar 2.



Gambar 2

**Prosedur** Sejumlah serbuk yang mencukupi untuk pengujian jika perlu diayak dengan ayakan yang memiliki lubang ayakan yang lebih besar atau sama dengan 1,0 mm untuk memecah gumpalan yang mungkin terbentuk selama penyimpanan sehingga memungkinkan contoh mengalir bebas ke dalam bejana pengukur (yang telah ditara) sampai berlebih. Secara hati-hati kikis kelebihan serbuk dari bagian atas bejana pengukur seperti yang dijelaskan pada *Metode II*. Tentukan bobot ( $M_0$ ) serbuk dengan pendekatan 0,1%. Hitung kerapatan serbuk ruahan (g/ml) dengan rumus  $M_0/100$ , dan catat rata-rata tiga pengukuran menggunakan tiga contoh serbuk yang berbeda.

**Kerapatan Serbuk Mampat** adalah tingkatan dari kerapatan serbuk mampat yang diperoleh dengan cara mengetuk secara mekanis gelas ukur atau bejana pengukur yang berisi serbuk. Setelah mengamati volume atau bobot serbuk awal, gelas ukur atau bejana pengukur diketuk secara mekanik dan pembacaan volume atau bobot dilakukan setelah terjadi perubahan volume atau bobot. Pengetukan secara mekanik didapat dengan cara meninggikan gelas ukur atau bejana pengukur sehingga memungkinkan serbuk untuk turun karena pengaruh bobotnya sendiri sampai jarak tertentu, menurut salah satu dari tiga metode seperti dijelaskan di bawah. Alat yang memutar gelas ukur atau bejana pengukur selama pengetukan mungkin lebih disukai untuk meminimalkan kemungkinan pemisahan massa selama pengetukan.



### Metode I

**Peralatan Alat** (Gambar 3) terdiri dari:

- Sebuah gelas ukur 250 ml (skala 2 ml dengan massa 220±44 g)
- Sebuah alat pemampat yang mampu menghasilkan 250±15 ketukan per menit dari ketinggian 3±0,2mm atau 300±15 ketukan dari ketinggian 14±2 mm.
- Penyangga gelas ukur dengan massa 450±10 g.

**Prosedur** Lakukan seperti yang dijelaskan di atas untuk penentuan volume ruah ( $V_0$ ). Pasang gelas ukur pada penyangga. Lakukan 10, 500, dan 1250 ketukan pada contoh serbuk yang sama dan baca  $V_{10}, V_{500}, V_{1250}$  ke satuan gelas ukur terdekat. Jika perbedaan antara  $V_{500}$  dan  $V_{1250}$  kurang dari 2 ml, maka  $V_{1250}$  adalah volume pemampatan. Jika perbedaan antara  $V_{500}$  dan  $V_{1250}$  melebihi 2 ml, ulangi peningkatan seperti pengetukan 1250, hingga perbedaan antara pengukuran kurang dari 2 ml. Mungkin diperlukan pengetukan yang lebih sedikit untuk beberapa jenis serbuk, saat divalidasi. Hitung kerapatan serbuk mampat (g/ml) dengan menggunakan rumus  $M/V_F$ ,  $V_F$  adalah volume setelah pengetukan akhir. Lakukan pengukuran secara berulang. Tetapkan ketinggian jatuh serta hasilnya. Jika tidak mungkin untuk menggunakan 100 g contoh uji, gunakan contoh yang dikurangi jumlahnya dan gelas ukur 100 ml (skala 1 ml) dengan berat 130±16 g dan terpasang pada dudukan dengan berat 240±12 g. Modifikasi kondisi uji cantumkan dalam laporan hasil.

### Metode II

**Peralatan dan Prosedur** Lakukan seperti yang dijelaskan pada *Metode I* kecuali bahwa alat uji mekanik memberikan tetesan tetap sebesar 3±0,2 mm pada kecepatan 250 ketukan per menit.

### Metode III

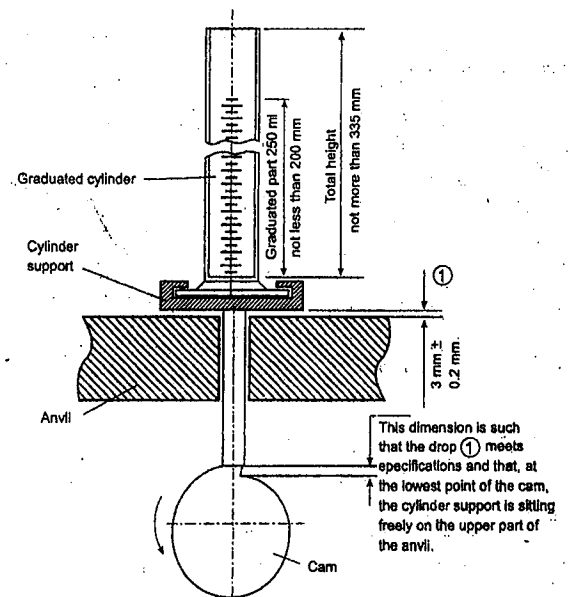
**Peralatan dan Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Metode III Pengukuran Menggunakan Bejana Pengukur* dalam *Kerapatan Serbuk Ruahan* untuk mengukur kerapatan serbuk mampat menggunakan perlengkapan bejana tertutup seperti *Gambar 2*. Bejana pengukur yang dilengkapi dengan penutup, diangkat 50 - 60 kali per menit menggunakan alat uji kerapatan serbuk mampat yang sesuai. Lakukan 200 kali pengetukan, buka penutup, dan secara hati-hati kikis kelebihan serbuk dari atas bejana pengukur seperti yang dijelaskan dalam *Metode III Pengukuran Menggunakan Bejana Pengukur* untuk mengukur kerapatan serbuk ruahan. Ulangi prosedur menggunakan 400 kali pengetukan. Jika perbedaan antara dua massa setelah 200 dan 400 pengetukan melebihi 2%, lakukan pengujian menggunakan tambahan 200 kali pengetukan lagi sampai diperoleh perbedaan antara kedua pengukuran kurang dari 2%. Hitung kerapatan serbuk mampat (g/ml) dengan rumus  $M_F/100$ ,  $M_F$  adalah massa serbuk pada bejana pengukur. Hitung rata-rata dari tiga

pengukuran menggunakan tiga contoh serbuk yang berbeda.

### Pengukuran Kompresibilitas Serbuk

Karena interaksi antar partikel yang mempengaruhi sifat ruahan dari serbuk juga mempengaruhi aliran serbuk, perbandingan antara kerapatan serbuk ruahan dan kerapatan serbuk mampat menggambarkan nilai interaksi ini dalam serbuk. Perbandingan ini sering digunakan sebagai indeks kemampuan serbuk mengalir, misalnya *Indeks Kompresibilitas* atau *Perbandingan Hausner* seperti dijelaskan di bawah ini.

*Indeks Kompresibilitas* dan *Perbandingan Hausner* adalah ukuran dari kecenderungan serbuk yang akan dikompres seperti dijelaskan di atas, yang merupakan kemampuan serbuk untuk mantap dan relatif berguna untuk menetapkan interaksi antar partikulat. Pada serbuk yang mengalir bebas, interaksi tersebut kurang berarti dan nilai kerapatan serbuk ruahan dan serbuk mampat lebih dekat. Untuk bahan yang lebih sukar mengalir, interaksi antar partikel sering lebih besar dan perbedaan antara kerapatan serbuk ruahan dan serbuk mampat juga besar. Perbedaan ini tercermin dalam *Indeks Kompresibilitas* dan *Perbandingan Hausner*.



Gambar 3

**Indeks Kompresibilitas** Dihitung dengan rumus:

$$100 \left( \frac{V_0 - V_F}{V_0} \right)$$

$V_0$  = volume sebelum dimampatkan

$V_F$  = volume setelah pengetukan

**Perbandingan Hausner** Dihitung dengan rumus:

$$\frac{V_0}{V_F}$$

Tergantung pada serbuk, indeks kompresibilitas dapat diukur menggunakan  $V_{10}$  selain  $V_0$ . [Catatan Jika  $V_{10}$  digunakan, harus dicantumkan pada laporan hasil.]

### KESEMPURNAAN MELARUT <901>

Masukkan sejumlah zat seperti tertera dalam masing-masing monografi ke dalam gelas ukur bersumbat kaca 10 ml dengan ukuran lebih kurang 125 mm x 13 mm dan telah dibersihkan dengan cermat. Dengan menggunakan pelarut seperti tertera dalam masing-masing monografi atau pada etiket, isi gelas ukur hingga hampir ke leher gelas. Kocok hati-hati hingga larut; larutan harus sama jernihnya dengan sejumlah volume sama dari pelarut yang sama, dalam wadah yang serupa dan diperlakukan dengan cara yang sama.

### KESERAGAMAN SEDIAAN <911>

[Catatan Dalam bab ini, satuan dan satuan sediaan adalah sinonim.]

Untuk menjamin konsistensi satuan sediaan, masing-masing satuan dalam betas harus mempunyai kandungan zat aktif dalam rentang sempit yang mendekati kadar yang tertera pada etiket. Satuan sediaan didefinisikan sebagai bentuk sediaan yang mengandung dosis tunggal atau bagian dari suatu dosis zat aktif pada masing-masing satuan. Persyaratan keseragaman sediaan tidak berlaku untuk suspensi, emulsi atau gel dalam wadah satuan dosis yang ditujukan untuk penggunaan secara eksternal pada kulit.

Keseragaman sediaan didefinisikan sebagai derajat keseragaman jumlah zat aktif dalam satuan sediaan. Persyaratan yang ditetapkan dalam bab ini berlaku untuk masing-masing zat aktif yang terkandung dalam satuan sediaan yang mengandung satu atau lebih zat aktif, kecuali dinyatakan lain dalam FI.

Keseragaman sediaan ditetapkan dengan salah satu dari dua metode, yaitu *Keragaman bobot* dan *Keseragaman kandungan* (Tabel 1). Uji *Keseragaman kandungan* berdasarkan pada penetapan kadar masing-masing kandungan zat aktif dalam satuan sediaan untuk menentukan apakah kandungan masing-masing terletak dalam batasan yang ditentukan. Metode *keseragaman kandungan* dapat digunakan untuk semua kasus.

Uji *Keragaman bobot* diterapkan pada bentuk sediaan berikut:

- (B1) Larutan dalam wadah satuan dosis dan dalam kapsul lunak;
- (B2) Sediaan padat (termasuk serbuk, granul dan sediaan padat steril) yang dikemas dalam wadah

dosis tunggal dan tidak mengandung zat tambahan aktif atau inaktif;

- (B3) Sediaan padat (termasuk sediaan padat steril) yang dikemas dalam wadah dosis tunggal, dengan atau tanpa zat tambahan aktif atau inaktif, yang disiapkan dari larutan asal dan dibeku-keringkan dalam wadah akhir dan pada etiket dicantumkan metode pembuatan; dan
- (B4) Kapsul keras, tablet tidak bersalut atau tablet salut selaput, mengandung zat aktif 25 mg atau lebih yang merupakan 25% atau lebih terhadap bobot, satuan sediaan atau dalam kasus kapsul keras, kandungan kapsul, kecuali keseragaman dari zat aktif lain yang tersedia dalam bagian yang lebih kecil memenuhi persyaratan keseragaman kandungan.

Uji *Keseragaman kandungan* dipersyaratkan untuk semua bentuk sediaan yang tidak memenuhi kondisi di atas pada uji *Keragaman bobot*. Jika dipersyaratkan uji *Keseragaman kandungan*, industri dapat memenuhi persyaratan ini dengan melakukan uji *Keragaman bobot* jika simpangan baku relatif (SBR) kadar dari zat aktif pada sediaan akhir tidak lebih dari 2%. Penetapan SBR ini berdasarkan data validasi proses dan pengembangan produk industri. SBR kadar adalah simpangan baku relatif kadar per satuan sediaan (b/b atau b/v) dengan kadar tiap satuan sediaan setara dengan hasil penetapan kadar tiap satuan sediaan dibagi dengan bobot masing-masing satuan sediaan (Tabel 2). Jika sediaan diuji *Keragaman bobot* seperti di atas, *Keseragaman kandungan* harus memenuhi syarat.

#### Keseragaman Kandungan

Ambil tidak kurang dari 30 satuan dan lakukan seperti berikut untuk bentuk sediaan yang dimaksud.

Jika prosedur yang digunakan untuk penetapan kadar dan uji *Keseragaman sediaan* berbeda, diperlukan faktor koreksi yang akan digunakan untuk memperoleh hasil pengujian.

**Sediaan padat** Tetapkan kadar masing-masing 10 satuan menggunakan metode analisis yang sesuai. Hitung nilai penerimaan (Tabel 2).

**Sediaan cair** Lakukan penetapan kadar pada sejumlah tertentu bahan yang ditelah dikocok dan dipindahkan dari masing-masing wadah dalam kondisi penggunaan yang normal dan nyatakan hasil sebagai dosis terbagi. Hitung nilai penerimaan (Tabel 2).

**Perhitungan Nilai Penerimaan** Hitung nilai penerimaan dengan rumus:

$$|M - \bar{X}| + ks$$

Keterangan seperti tercantum pada Tabel 2.

### Keragaman Bobot

Lakukan penetapan kadar zat aktif pada contoh bets yang mewakili menggunakan metode analisis yang sesuai. Nilai ini disebut hasil A, dinyatakan dalam persen dari jumlah yang tertera pada etiket (seperti tertera pada *Perhitungan nilai penerimaan*) dengan asumsi kadar (bobot zat aktif per bobot satuan sediaan) homogen. Ambil tidak kurang dari 30 satuan sediaan dan lakukan seperti berikut untuk bentuk sediaan yang dimaksud.

**Tablet tidak bersalut atau bersalut selaput** Timbang saksama 10 tablet satu per satu. Hitung jumlah zat aktif dalam tiap tablet yang dinyatakan dalam persen dari jumlah yang tertera pada etiket dari hasil *Penetapan kadar* masing-masing tablet. Hitung nilai penerimaan.

**Kapsul keras** Timbang saksama 10 kapsul satu per satu, beri identitas masing-masing kapsul. Keluarkan isi masing-masing kapsul dengan cara yang sesuai. Timbang saksama tiap cangkang kapsul kosong, dan hitung bobot bersih dari isi tiap kapsul dengan cara mengurangi bobot cangkang kapsul dari masing-masing bobot bruto. Hitung jumlah zat aktif dalam tiap kapsul dari hasil *Penetapan kadar* masing-masing isi kapsul. Hitung nilai penerimaan.

**Kapsul lunak** Timbang saksama 10 kapsul utuh satu per satu untuk memperoleh bobot kapsul, beri identitas tiap kapsul. Kemudian buka kapsul dengan alat pemotong bersih dan kering yang sesuai seperti gunting atau pisau tajam, keluarkan isi, dan bilas dengan pelarut yang sesuai. Biarkan sisa pelarut menguap dari cangkang kapsul pada suhu ruang dalam waktu lebih kurang 30 menit, lindungi terhadap penarikan atau kehilangan kelembaban. Timbang tiap cangkang kapsul, dan hitung bobot bersih isi kapsul. Hitung jumlah zat aktif dalam tiap kapsul dari hasil *Penetapan kadar* masing-masing isi kapsul. Hitung nilai penerimaan.

**Sediaan padat selain tablet dan kapsul** Lakukan seperti tertera pada *Kapsul keras*. Hitung nilai penerimaan.

**Sediaan cair** Timbang saksama sejumlah cairan yang dikeluarkan dari 10 wadah satu per satu seperti penggunaan normal. Jika perlu lakukan perhitungan kesetaraan volume setelah penetapan bobot jenis. Hitung jumlah zat aktif dalam tiap wadah dari hasil *Penetapan kadar*. Hitung nilai penerimaan.

**Perhitungan nilai penerimaan** Hitung nilai penerimaan seperti pada uji *Keseragaman kandungan*, kecuali kandungan masing-masing satuan diganti dengan perkiraan kandungan masing-masing sebagai berikut:

$X_1, X_2, \dots, X_n$	=	Perkiraan masing-masing kandungan dari satuan yang diuji, dengan $X_i = w_i \times A / \bar{w}$
$w_1, w_2, \dots, w_n$	=	Bobot masing-masing satuan yang diuji pada <i>Keragaman bobot</i>
A	=	kandungan zat aktif (persen terhadap jumlah yang tertera pada etiket) yang diperoleh menggunakan metode analisa yang sesuai
$\bar{w}$	=	rata-rata dari bobot masing-masing satuan ( $w_1, w_2, \dots, w_n$ )
$X_1, X_2, \dots, X_n$	=	perkiraan masing-masing kandungan dari satuan yang diuji, dengan $X_i = w_i \times A / \bar{w}$
$w_1, w_2, \dots, w_n$	=	Bobot masing-masing satuan yang diuji pada <i>Keragaman bobot</i>
A	=	kandungan zat aktif (persen terhadap jumlah yang tertera pada etiket) yang diperoleh menggunakan metode analisa yang sesuai
$\bar{w}$	=	rata-rata dari bobot masing-masing satuan ( $w_1, w_2, \dots, w_n$ )

### Kriteria

Gunakan kriteria berikut kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

**Sediaan padat dan cair** Keseragaman sediaan memenuhi syarat jika nilai penerimaan 10 unit sediaan pertama tidak kurang atau sama dengan L1%. Jika nilai penerimaan lebih besar dari L1%, lakukan pengujian pada 20 unit sediaan tambahan, dan hitung nilai penerimaan. Memenuhi syarat jika nilai penerimaan akhir dari 30 unit sediaan lebih kecil atau sama dengan L1% dan tidak ada satu unitpun kurang dari  $[1 - (0,01)(L2)]M$  atau tidak satu unitpun lebih dari  $[1 + (0,01)(L2)]M$  seperti tertera pada *Perhitungan nilai penerimaan* dalam *Keseragaman kandungan* atau *Keragaman bobot*. Kecuali dinyatakan lain L1 adalah 15,0 dan L2 adalah 25,0.

**Tabel 1 Penggunaan Uji Keseragaman kandungan dan Uji Keragaman bobot untuk sediaan**

Bentuk sediaan	Tipe	Sub tipe	Dosis dan perbandingan zat aktif	
			$\geq 25$ mg dan $\geq 25$ %	$< 25$ mg atau $< 25$ %
Tablet	Tidak bersalut		Keragaman bobot	Keseragaman kandungan
	Salut	Selaput	Keragaman bobot	Keseragaman kandungan
		Lainnya	Keseragaman kandungan	Keseragaman kandungan

Kapsul	Keras		Keragaman bobot	Keseragaman kandungan
	Lunak	Suspensi, emulsi, atau gel	Keseragaman kandungan	Keseragaman kandungan
Sediaan padat dalam wadah dosis tunggal	Komponen tunggal	Larutan	Keragaman bobot	Keragaman bobot
		Multi komponen	Larutan beku kering dalam wadah akhir	Keragaman bobot
	Lainnya		Keseragaman kandungan	Keseragaman kandungan
Larutan dalam wadah satuan dosis dan dalam kapsul lunak			Keragaman bobot	Keragaman bobot
Lainnya			Keseragaman kandungan	Keseragaman kandungan

Tabel 2

Variabel	Definisi	Kondisi	Nilai
$\bar{X}$	Rata-rata dari masing-masing kandungan ( $X_1, X_2, \dots, X_n$ ) yang dinyatakan dalam persentase dari jumlah yang tertera pada etiket		
$X_1, X_2, \dots, X_n$	Kandungan masing-masing satuan sediaan yang diuji, dinyatakan dalam persentase dari jumlah yang tertera pada etiket		
n	Jumlah sampel (jumlah satuan dalam sampel)		
k	Konstanta penerimaan	Jika $n = 10$ , maka $k =$ Jika $n = 30$ , maka $k =$	2,4 2,0
s	Simpangan baku sampel		$\sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$
SBR	Simpangan baku relatif (simpangan baku contoh yang dinyatakan dalam persentase rata-rata)		$\frac{100s}{\bar{X}}$
M (kasus 1) yang digunakan jika $T \leq 101,5$	Nilai rujukan	Jika $98,5\% \leq \bar{X} \leq 101,5\%$ , maka	$M = \bar{X}$ (NP = ks)
		Jika $\bar{X} < 98,5\%$ , maka	$M = 98,5\%$ (NP = $98,5 - \bar{X} + ks$ )
		Jika $\bar{X} > 101,5\%$ , maka	$M = 101,5\%$ (NP = $\bar{X} - 101,5\% + ks$ )
M (kasus 2) yang digunakan jika $T > 101,5$	Nilai rujukan	Jika $98,5\% \leq \bar{X} \leq T$ maka	$M = \bar{X}$ (NP = ks)
		Jika $\bar{X} < 98,5\%$ , maka	$M = 98,5\%$ (NP = $98,5 - \bar{X} + ks$ )
		Jika $\bar{X} > T$ maka	$M = T\%$ (NP = $\bar{X} - T + ks$ )
Nilai penerimaan (NP)			Rumus umum $ M - \bar{X}  + ks$ (perhitungan diatas dinyatakan untuk kasus yang berbeda)
L1	Nilai penerimaan maksimum yang diperbolehkan		L1 = 15,0 kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi
L2	Rentang deviasi maksimum dari tiap satuan sediaan yang diuji dari perhitungan nilai M	Pada bagian bawah, tidak ada satupun hasil satuan sediaan yang boleh kurang dari $[1 - (0,01)(L2)] M$ . Pada bagian atas tidak ada satupun hasil satuan sediaan yang boleh lebih besar dari $[1 + (0,01)(L2)] M$ (berdasarkan nilai $L2 = 25,0$ )	L2 = 25,0 kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi

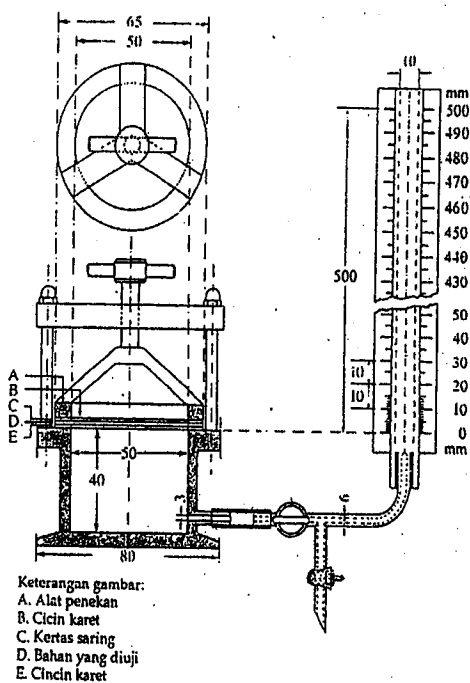
Variabel	Definisi	Kondisi	Nilai
T	Nilai kandungan tiap satuan sediaan pada saat diproduksi, dinyatakan sebagai persentase dari jumlah yang tertera pada etiket. Untuk penggunaan pada farmakope, kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, T adalah 100,0%. Untuk tujuan produksi, T adalah nilai yang disetujui oleh industri pada saat produksi.		

**KETAHANAN TERHADAP AIR <921>**

Air tidak boleh menembus paling sedikit lima contoh, jika diuji dengan cara berikut.

**Alat**

Alat yang sesuai (lihat gambar) terdiri dari sel yang dapat memberi tekanan hidrostatik 500 mm air kepada permukaan lingkaran lebih kurang 20 cm<sup>2</sup> air pada sisi tak berpegas dari bahan yang akan diuji. Contoh dijepit pada posisi horizontal menggunakan dua cincin, cincin bawah merupakan bagian dari sel. Permukaan cincin yang berhubungan langsung dengan contoh dilapis dengan bahan salut yang sesuai, seperti karet. Penjepit dikencangkan dengan memutar sekrup untuk mencegah kebocoran air atau bergesernya contoh selama pengujian. Tekanan hidrostatik dibangkitkan dari tabung vertikal, berdiameter dalam lebih kurang 10 mm, dan dihubungkan dengan dasar sel.



Keterangan gambar:  
 A. Alat penekan  
 B. Cincin karet  
 C. Kertas saring  
 D. Bahan yang diuji  
 E. Cincin karet

Gambar Alat untuk Pengukuran Ketahanan Terhadap Air (ukuran dalam mm)

**Prosedur**

Siapkan contoh tanpa dilipat dan tanpa perlakuan tambahan. Isi sel dengan air suhu antara 19° - 21°.

Letakkan sampel, berbentuk lingkaran dengan diameter terbesar 5 cm, pada cincin bawah dengan cara menggeser horizontal sedemikian rupa untuk menghindari penyusupan udara antara permukaan air dan permukaan bawah sampel. Tutup permukaan atas dengan kertas saring kering berdiameter 45 mm, letakkan cincin atas dan kencangkan sekrup. Tuangkan air ke dalam tabung sampai diperoleh tinggi air yang dipersyaratkan di atas permukaan contoh. Pertahankan tekanan hidrostatik selama 5 menit kecuali dinyatakan lain dalam monografi, periksa kertas saring. Ulangi prosedur pada lima contoh berikutnya.

**KONDUKTIVITAS AIR <925>**

Konduktivitas elektrik air adalah pengukuran elektron melalui fasilitas ion yang mengalir. Molekul air berdisosiasi menjadi ion sebagai fungsi dari pH dan suhu, dan menghasilkan konduktivitas air yang dapat diperkirakan. Beberapa gas, khususnya karbon dioksida, mudah larut dalam air dan berinteraksi membentuk ion, mempengaruhi konduktivitas yang dapat diperkirakan, seperti halnya pada pH. Untuk tujuan diskusi ini, ion-ion tersebut dan nilai konduktivitasnya dapat dipertimbangkan sebagai sifat intrinsik air.

Konduktivitas air juga dipengaruhi adanya ion dari luar. Contoh konduktivitas dari ion luar adalah ion klorida dan natrium. Batasan cemaran utama yang diperbolehkan terdapat pada air adalah 0,47 bpj untuk ion klorida dan 0,3 bpj untuk ion amonium. Sebagai kesetimbangan jumlah kation, misal ion natrium, termasuk pada tingkat cemaran yang diperbolehkan untuk mempertahankan elektronetralitas. Ion luar seperti ini mempunyai pengaruh nyata pada kemurnian kimia air dan kesesuaian pada penggunaan di bidang farmasi. Prosedur pada *Air Ruahan* dibuat untuk pengukuran konduktivitas air seperti *Air Murni*, *Air untuk Injeksi*, air untuk hemodialisis dan kondensat uap air murni. Prosedur dalam bagian *Air Steril* mempersyaratkan pengukuran konduktivitas air seperti pada *Air Murni*, *Air untuk Injeksi*, air untuk inhalasi dan air steril untuk irigasi.

Uji konduktivitas secara langsung memberi pengukuran pada saat yang sama dan kemungkinan untuk memantau proses, membuat keputusan dan mengintervensi pada saat yang sama. Tindakan pencegahan harus dilakukan pada saat pengumpulan contoh air untuk pengukuran konduktivitas. Contoh dapat dipengaruhi oleh metode pengambilan contoh, wadah

sampel dan faktor lingkungan seperti konsentrasi karbon dioksida dan uap organik di udara sekitar.

## SPEKIFIKASI ALAT DAN PARAMETER KERJA

Konduktivitas air harus diukur secara tepat menggunakan peralatan terkalibrasi. Sel konduktivitas konstan, suatu faktor yang menunjukkan sifat geometrik sensor konduktivitas, diketahui memiliki ketelitian  $\pm 2\%$ . Tetapan sel dapat diverifikasi secara langsung menggunakan suatu larutan yang diketahui atau dapat tertelusur konduktivitasnya, atau secara tidak langsung dengan membandingkan pembacaan alat dari sensor konduktivitas yang diuji dengan sensor konduktivitas dari tetapan sel yang diketahui atau yang dapat tertelusur.

Kalibrasi dapat dilakukan dengan mengganti sensor konduktivitas dengan standar nasional (dengan ketelitian resistor yang tertelusur dengan akurasi  $\pm 0,1\%$  dari nilai tertera) atau alat dengan resistivitas yang sesuai dengan tahanan yang dapat diatur misalnya Jembatan Wheatstone, hingga memberi respon seperti yang diinginkan. Skala pada alat ukur membutuhkan kalibrasi secara terpisah sebelum digunakan. Frekuensi rekalisasi tergantung desain alat, derajat penggunaan dan lain-lain. Alat multi skala memerlukan pengaturan kalibrasi tunggal, rekalisasi diperlukan diantara setiap penggunaan skala berbeda. Disamping akurasi tetapan secara sensor konduktivitas, akurasi alat harus  $\pm 0,1 \mu\text{S/cm}$ .

Untuk meningkatkan akurasi pengukuran pada jarak konduktivitas yang digunakan, yang mungkin cukup lebar, dan untuk menjamin peralatan kalibrasi yang lengkap, disarankan untuk melakukan verifikasi secara berkala kinerja alat secara keseluruhan. Hal ini dapat dilakukan dengan membandingkan nilai konduktivitas/resistivitas yang terbaca pada alat ukur dengan alat pengukur konduktivitas terkalibrasi secara eksternal. Perbedaan dua nilai konduktivitas atau resistivitas tanpa pengaruh suhu dilakukan tidak lebih dari  $\pm 20\%$  atau perbedaan yang dapat diterima berdasarkan titik kritis produksi air dan atau rentang konduktivitas air yang diukur. Dua sensor konduktivitas seharusnya ditempatkan bersama dalam jarak cukup dekat untuk mengukur contoh air yang sama pada kondisi lingkungan yang sama.

Sebagai tambahan untuk metode verifikasi kinerja pada model pengganti tanpa pengaruh suhu, verifikasi kinerja yang mirip dapat dilakukan seperti pada model pengganti suhu untuk menjamin akurasi yang cukup dari alat jika model alat tersebut digunakan untuk analisis kecenderungan atau tujuan lain.

Suhu mempengaruhi pembacaan konduktivitas contoh. Banyak alat yang dapat mengoreksi secara otomatis pembacaan aktual untuk penunjukan nilainya, yang secara teoritis dapat diamati pada suhu nominal  $25^\circ$ . Hal ini khususnya dilakukan menggunakan sensor suhu yang ditempelkan pada sensor konduktivitas dan suatu algoritma pada sirkuit alat. Algoritma pengganti suhu ini mungkin tidak akurat. Nilai konduktivitas yang

digunakan pada metode ini adalah pengukuran pengganti tanpa pengaruh suhu. Pengukuran suhu disyaratkan untuk kinerja pada uji Tahap 1. Uji ini menggunakan sensor suhu eksternal yang diletakkan di dekat sensor konduktivitas yang dapat diterima. Ketepatan pengukuran suhu harus  $\pm 2^\circ$ .

Prosedur berikut harus dilakukan menggunakan alat yang telah dikalibrasi yang memiliki sel sensor konduktivitas yang tetap yang telah ditetapkan secara akurat dan mempunyai fungsi kompensasi suhu tidak berfungsi. Untuk pengukuran langsung atau tidak langsung kesesuaian alat untuk uji pengendalian mutu juga tergantung pada tempat pengambilan contoh pada sistem pengolahan air. Pemilihan tempat pengambilan contoh pada alat pengolahan air harus menunjukkan kualitas air yang digunakan.

## AIR RUAHAN

Prosedur dan uji batas pada bab ini dimaksudkan untuk menguji *Air Murni, Air untuk Injeksi*, air untuk hemodialisa, kondensat uap air murni dan monografi lain yang dinyatakan pada bab ini.

Konduktivitas gabungan ion intrinsik dan ion asing berbeda sebagai fungsi dari pH dan menjadi dasar spesifikasi konduktivitas yang digambarkan pada tabel *Tahap 3 (Persyaratan pH dan Konduktivitas)* dan digunakan jika metode uji *Tahap 3* dilakukan. Dua tahap pendahuluan yang dilakukan termasuk dalam uji metode ini. Jika kondisi uji dan batas konduktivitas memenuhi pada tahap pendahuluan, air memenuhi syarat pada pengujian ini. Pengujian *Tahap 3* pada keadaan ini tidak diperlukan. Hanya jika pada tahap uji akhir gagal, contoh dinilai tidak memenuhi syarat uji.

## Prosedur

### Tahap 1

*Tahap 1* dimaksudkan untuk pengukuran langsung atau mungkin digunakan secara tidak langsung pada wadah yang sesuai.

1. Tetapkan suhu dan konduktivitas air menggunakan pembacaan konduktivitas tanpa pengaruh suhu.

2. Menggunakan tabel *Tahap 1 (Persyaratan Suhu dan Konduktivitas)*, dapatkan nilai suhu yang tidak lebih besar dari suhu yang diukur misalnya suhu rendah berikutnya. Nilai konduktivitas yang sesuai dalam tabel ini adalah nilai batas [*Catatan Jangan lakukan interpolasi.*]

3. Jika pengukuran konduktivitas tidak lebih besar dari nilai pada tabel, air memenuhi syarat uji konduktivitas. Jika konduktivitas lebih besar dari nilai pada tabel, lanjutkan ke *Tahap 2*.

**Tahap 1 Persyaratan suhu dan konduktivitas**  
(hanya untuk pengukuran konduktivitas tanpa pengaruh suhu)

Suhu	Persyaratan Konduktivitas ( $\mu\text{S/cm}$ )
0	0,6
5	0,8
10	0,9
15	1,0
20	1,1
25	1,3
30	1,4
35	1,5
40	1,7
45	1,8
50	1,9
55	2,1
60	2,2
65	2,4
70	2,5
75	2,7
80	2,7
85	2,7
90	2,7
95	2,9
100	3,1

**Tahap 3 Persyaratan pH dan Konduktivitas**  
(hanya untuk contoh pada kesetimbangan atmosfer dan suhu)

Suhu	Persyaratan Konduktivitas ( $\mu\text{S/cm}$ )
5,0	4,7
5,1	4,1
5,2	3,6
5,3	3,3
5,4	3,0
5,5	2,8
5,6	2,6
5,7	2,5
5,8	2,4
5,9	2,4
6,0	2,4
6,1	2,4
6,2	2,5
6,3	2,4
6,4	2,3
6,5	2,2
6,6	2,1
6,7	2,6
6,8	3,1
6,9	3,8
7,0	4,6

**Tahap 2**

4. Masukkan sejumlah air (100 ml atau lebih) ke dalam wadah yang sesuai, aduk. Jika perlu atur suhu, pertahankan pada  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}$ , kocok kuat ukur konduktivitas secara berkala. Jika terjadi perubahan konduktivitas (yang disebabkan penyerapan karbon dioksida dari udara) kurang dari  $0,1 \mu\text{S/cm}$  per 5 menit, catat konduktivitas.

5. Jika konduktivitas tidak lebih besar dari  $2,1 \mu\text{S/cm}$ , air memenuhi syarat uji konduktivitas. Jika konduktivitas lebih besar dari  $2,1 \mu\text{S/cm}$ , lanjutkan ke Tahap 3.

**Tahap 3**

6. Lakukan uji penetapan konduktivitas pada langkah 5 selama lebih kurang 5 menit, dengan mempertahankan suhu pada  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}$ . Tambahkan larutan kalium klorida jenuh ke dalam contoh air yang sama ( $0,3 \text{ ml per } 100 \text{ ml zat uji}$ ), tentukan pH hingga  $0,1$  unit pH terdekat seperti pada *Penetapan pH <1071>*.

7. Mengacu pada tabel *Tahap 3 (Persyaratan pH dan Konduktivitas)*, tetapkan batas konduktivitas pada nilai pH terukur. Jika konduktivitas terukur pada langkah 4 tidak lebih besar dari persyaratan konduktivitas untuk penetapan pH pada langkah 6, air memenuhi syarat uji konduktivitas. Jika konduktivitas terukur lebih besar dari nilai tabel atau di luar rentang  $5,0 - 7,0$ , air tidak memenuhi syarat uji konduktivitas.

**AIR STERIL**

Prosedur dan uji batas Air Murni Steril, Air Steril untuk Injeksi, Air Steril untuk Inhalasi dan Air Steril untuk Irigasi dan Monografi lain yang dicantumkan pada bab ini. Air steril dibuat dari Air Murni, Air untuk Injeksi yang diketahui memenuhi persyaratan *Air Ruahan* sebelum di simpan dalam wadah. Spesifikasi berisi batas maksimum nilai konduktivitas dengan mempertimbangkan keterbatasan metode pengukuran dan pengambilan dari wadah. Spesifikasi tersebut dan pemilihan volume pengambilan contoh harus ditetapkan dan divalidasi berdasarkan tujuan penggunaan air.

**Prosedur**

Masukkan sejumlah air ke dalam wadah yang sesuai, aduk. Jika perlu atur suhu, pertahankan pada  $25\pm 1^{\circ}$ , kocok kuat ukur konduktivitas secara berkala. Jika terjadi perubahan konduktivitas (yang disebabkan penyerapan karbon dioksida dari udara) kurang dari  $0,1 \mu\text{S/cm}$  per 5 menit, catat konduktivitas.

Untuk wadah dengan volume 10 ml atau kurang, jika konduktivitas tidak lebih besar dari  $25 \mu\text{S/cm}$ , air memenuhi syarat. Untuk wadah dengan volume lebih besar dari 10 ml, jika konduktivitas tidak lebih dari  $5 \mu\text{S/cm}$ , air memenuhi syarat.

**KROMATOGRAFI <931>**

Teknik pemisahan kromatografi adalah metode pemisahan multi tahap dimana komponen suatu sampel

didistribusikan antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan pendukung pada suatu padatan atau gel. Fase diam dapat dikemas dalam suatu kolom, menyebar sebagai suatu lapisan, didistribusikan sebagai suatu film, atau diaplikasikan oleh teknik lain. Fase gerak dapat berupa gas atau cairan atau fluida superkritikal. Proses pemisahan dapat berupa suatu adsorpsi, distribusi massa (partisi), atau pertukaran ion, atau berdasarkan perbedaan antara sifat fisika kimia suatu molekul, seperti ukuran, massa dan volume. Bagian ini mencakup tentang prosedur umum, definisi dan perhitungan dari parameter umum dan menjelaskan persyaratan umum untuk kesesuaian sistem. Jenis-jenis kromatografi yang digunakan dalam prosedur analisis kualitatif dan kuantitatif dalam Farmakope adalah kromatografi kolom, kromatografi gas, kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis (termasuk kromatografi lapis tipis kinerja tinggi/ KLTKT), dan kromatografi cairan yang diberi tekanan atau yang biasa dikenal dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

#### PROSEDUR UMUM

Bagian ini menggambarkan prosedur dasar yang digunakan ketika metode kromatografi terdapat dalam suatu monografi. Prosedur berikut ini harus diikuti kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

#### KROMATOGRAFI KERTAS

**Fase diam** Merupakan lembaran kertas dengan bentuk dan ketebalan yang sesuai. Proses eluasi dapat menaik, dimana fase gerak dibawa oleh kertas melalui gaya kapiler, atau eluasi menurun, dimana fase gerak merambat dengan bantuan gaya gravitasi. Arah kertas sehubungan dengan rambatan fase gerak harus dipertahankan konstan dalam serangkaian kromatogram.

**Peralatan** Peralatan penting untuk kromatografi kertas terdiri dari bejana kromatografi kedap udara dengan *inlet* untuk memasukkan eluen atau menurunkan tekanan dalam bejana dan rak dari bahan tahan korosi, 5 cm di bawah bagian dalam mulut bejana kromatografi. Rak berfungsi sebagai pendukung untuk palung pelarut dan batang untuk gantungan kertas kromatografi. Bagian bawah bejana kromatografi berisi fase gerak yang telah ditetapkan. Jenuhkan bejana dengan uap fase gerak dengan meletakkan kertas saring yang telah dibasahi fase gerak sepanjang dinding bagian dalam bejana.

**Penotolan** Zat atau campuran zat yang akan diuji dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Larutan biasanya mengandung 1 - 20 µg senyawa, dengan menggunakan mikropipet yang sesuai, ditotolkan dalam bentuk titik 6-10 mm, dengan jarak totolan tidak kurang dari 3 cm.

#### Prosedur Kromatografi Kertas Eluasi Menurun:

1. Kertas kromatografi yang telah ditotolkan larutan uji, dimasukkan ke dalam bejana, digantung

menggunakan batang untuk memegang ujung atas kertas dalam palung pelarut. [Catatan Pastikan posisi kertas yang menggantung tidak menyentuh rak, dinding bejana kromatografi, ataupun larutan dalam bejana kromatografi.]

2. Bejana kromatografi ditutup rapat, masukkan fase gerak melalui inlet, biarkan sampai bejana kromatografi jenuh dengan uap fase gerak.
3. Kelebihan tekanan dapat dikurangi bila diperlukan, tutup *inlet* dan biarkan fase gerak merambat pada kertas secara menurun sesuai dengan jarak yang telah ditentukan.
4. Keluarkan kertas dari bejana kromatografi.
5. Tandai batas rambat dan keringkan kertas.
6. Amati kromatogram dengan penampak bercak atau sinar UV.

#### Prosedur Kromatografi Kertas Eluasi Menaik

1. Masukkan fase gerak ke dalam bejana kromatografi.
2. Tutup rapat bejana kromatografi hingga jenuh dengan uap fase gerak. Kelebihan tekanan dapat dikurangi bila diperlukan.
3. Celupkan kertas kromatografi ke dalam fase.
4. Ketika eluasi sampai pada batas yang telah ditentukan, keluarkan kertas kromatografi dan keringkan.
5. Amati kromatogram dengan penampak bercak atau sinar UV.

#### KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

**Fase diam** Berupa lapisan tipis, kering merata, terbuat dari bahan serbuk halus dilapiskan secara akurat pada suatu kaca, plastik, atau lempeng aluminium (umumnya semua disebut lempeng). Fase diam dari lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) mempunyai ukuran partikel rata-rata 10 - 15 µm, dan KLTKT mempunyai ukuran partikel rata-rata 5 µm. Lempeng komersial dengan zona *preadsorbent* dapat digunakan apabila spesifikasinya sesuai dengan monografi. Sampel ditotolkan pada daerah *preadsorbent* dikembangkan dalam pita pendek yang tajam pada *interface preadsorbent-sorbent*. Pemisahan dicapai berdasarkan adsorpsi, partisi, atau kombinasi dari keduanya, tergantung pada jenis partikel dari fase diamnya.

**Peralatan** Bejana kromatografi harus *inert*, transparan, dengan spesifikasi sebagai berikut: bagian bawah datar atau "twin trough", tutup rapat, dan ukurannya sesuai dengan lempeng. Bejana kromatografi ditandai dengan paling tidak satu dindingnya dimasukkan kertas saring. Fase gerak atau pelarut pengembang yang sesuai ditambahkan ke dalam bejana kromatografi, setelah impregnasi kertas saring, lempeng dengan ukuran yang tepat dapat digunakan. Bejana kromatografi ditutup dan dibiarkan jenuh [Catatan Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, pemisahan kromatografi dilakukan pada kondisi bejana yang jenuh.]



**Deteksi** Untuk pengamatan lakukan dengan lampu UV gelombang pendek (254 nm) dan UV gelombang panjang (365 nm). Berbagai penampak bercak dapat digunakan.

**Penoolan** Totolkan larutan pada permukaan lempeng dengan volume penotolan yang telah ditentukan untuk memperoleh totolan dengan diameter 2 - 5mm (1-2 mm pada lempeng KLTKT) atau bentuk pita 10 - 20 mm x 1 - 2 mm (5 - 10 mm x 0.5 - 1 mm pada lempeng KLTKT) dengan jarak yang telah ditetapkan dari tepi bawah dan sisi samping lempeng. *[Catatan Selama proses eluasi, posisi penotolan harus sedikitnya 5 mm (KLT) atau 3 mm (KLTKT) di atas permukaan fase gerak.]*

Larutan ditotolkan secara paralel dari tepi bawah lempeng dengan jarak antara 2 titik pusat penotolan tidak kurang dari 10 mm dan 5 mm pada lempeng KLTKT. Untuk penotolan berupa pita, jarak antara 2 ujung pita tidak kurang dari 4 mm dan 2 mm pada lempeng KLTKT, kemudian biarkan kering.

#### Prosedur:

1. Masukkan lempeng ke dalam bejana kromatografi, pastikan titik atau pita hasil penotolan di atas permukaan fase gerak.
2. Tutup bejana kromatografi.
3. Biarkan fase gerak merambat hingga batas yang ditetapkan, tigaperempat tinggi lempeng atau jarak sesuai pada monografi.
4. Angkat lempeng, tandai batas rambat, keringkan.
5. Deteksi kromatogram sesuai prosedur.
6. Tentukan harga  $R_f$  bercak.
7. Identifikasi sementara dapat dibuat dengan mengamati harga  $R_f$  bercak dibandingkan dengan baku. Perbandingan visual dari ukuran atau intensitas bercak atau zona dapat digunakan untuk perkiraan semikuantitatif. Pengukuran kuantitatif dapat dilakukan secara densitometri.

## KROMATOGRAFI KOLOM

**Alat** Terdiri dari tabung kromatografi dan sebuah batang pemampat yang diperlukan untuk memadatkan wol kaca atau kapas pada dasar tabung jika diperlukan, serta untuk memadatkan zat penjerap atau campuran zat penjerap dan air secara merata di dalam tabung. Kadangkala digunakan cakram kaca berpori yang melekat pada dasar tabung untuk menyangga isinya. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, tabung berbentuk silinder dan terbuat dari kaca. Sebuah keran dengan diameter yang lebih kecil menyatu dengan tabung pada ujung bawah tabung utama atau disambung menggunakan suatu sambungan anti bocor. Ukuran kolom bervariasi; kolom yang umum digunakan dalam analisis farmasi mempunyai diameter dalam 10 - 30 mm dan panjang 150 - 400 mm, tidak termasuk keran. Keran, umumnya mempunyai diameter dalam 3 - 6 mm. Batang pemampat merupakan suatu batang silinder, melekat kuat pada sebuah tangkai yang terbuat dari plastik, kaca, baja tahan karat, atau aluminium, kecuali bila dinyatakan lain dalam masing-masing monografi. Tangkai batang

pemampat biasanya mempunyai diameter lebih kurang 1 mm lebih kecil dari diameter dalam kolom dan panjang minimal 5 cm melebihi panjang efektif kolom.

### A. Kromatografi Kolom Adsorpsi

Zat penjerap (misalnya alumina atau silika gel yang telah diaktifkan, tanah diatomae terkalsinasi, atau tanah silika yang dimurnikan untuk kromatografi) dalam keadaan kering atau sebagai bubuk, dimampatkan ke dalam tabung kromatografi kaca atau kuarsa. Zat uji yang dilarutkan dalam sejumlah kecil pelarut, dituangkan ke dalam kolom, dan dibiarkan mengalir ke dalam zat penjerap. Zat berkhasiat diadsorpsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penjerap berupa pita sempit pada permukaan atas kolom. Dengan penambahan pelarut lebih lanjut melalui kolom, pita bergerak oleh gaya gravitasi atau dengan memberikan tekanan. Masing-masing zat bergerak turun dengan kecepatan tertentu, sehingga terjadi pemisahan dan diperoleh kromatogram. Laju gerakan zat dipengaruhi oleh sejumlah variabel, misalnya daya adsorpsi zat penjerap, ukuran partikel dan luas permukaan, sifat dan polaritas pelarut, tekanan yang digunakan dan suhu sistem kromatografi.

Jika senyawa yang terpisah berwarna atau berfluoresensi di bawah cahaya ultra violet, kolom penjerap dapat dikeluarkan dan dengan cara memotong melintang, lapisan yang diperlukan dapat dipisahkan. Senyawa yang dikehendaki diekstraksi dari tiap lapisan dengan pelarut yang sesuai.

Jika senyawa tidak berwarna, letaknya dapat diketahui dengan cara memberi warna atau menyemprot kolom yang telah dikeluarkan dengan pereaksi yang dapat membentuk warna. Zat radioaktif yang dikromatografi dapat diketahui letaknya dengan menggunakan pencacah Geiger-Muller atau yang sejenis. Tabung plastik yang jernih terbuat dari bahan seperti nilon, yang bersifat inert terhadap kebanyakan pelarut dan transparan terhadap cahaya ultra violet gelombang pendek, dapat diisi zat penjerap dan digunakan sebagai kolom kromatografi. Kolom semacam ini dapat disayat dengan pisau yang tajam, tanpa mengeluarkan isi kolom dari tabungnya. Jika digunakan zat penjerap yang berfluoresensi, kolom dapat ditandai di bawah cahaya ultra violet sebelum disayat.

Kromatogram yang sering digunakan, diperoleh dengan prosedur mengalirkan pelarut melalui kolom sehingga obat yang dipisahkan keluar bersama pelarut, ini disebut eluat. Kadar obat di dalam eluat dapat ditetapkan dengan metode titrasi, spektrofotometri, kolorimetri, atau pelarutnya dapat diuapkan, sehingga diperoleh obatnya dalam keadaan lebih kurang murni. Jika terdapat zat berkhasiat yang kedua, elusi dapat dilanjutkan dengan pelarut yang sama atau pelarut lain yang mempunyai daya elusi yang lebih kuat. Efisiensi pemisahan dapat diperoleh melalui uji kromatografi lapis tipis pada masing-masing fraksi.

Pada keadaan tertentu digunakan cara yang dimodifikasi untuk menambahkan campuran pada kolom. Obat dalam bentuk padat, misalnya serbuk tablet tanpa pemisahan dari eksipien dicampur dengan sebagian zat penjerap dan dimasukkan ke dalam bagian atas kolom.

Selanjutnya aliran pelarut membawa obat turun dengan cara seperti yang diuraikan di atas.

### B. Kromatografi Kolom Partisi

Pada kromatografi partisi, zat yang harus dipisahkan terbagi ke dalam dua cairan yang tidak bercampur. Salah satu cairan sebagai fase diam, disalutkan pada *penyangga padat*, sehingga mempunyai area permukaan sangat luas yang bersentuhan dengan fase gerak. Kontak cairan dengan cairan secara berturutan dan berulang kali, menghasilkan efisiensi pemisahan yang tidak dapat dicapai dengan cara ekstraksi cair-cair biasa.

*Penyangga padat* umumnya bersifat polar, dan fase diam yang teradsorpsi bersifat lebih polar dari pada fase gerak. *Penyangga padat* yang banyak digunakan adalah tanah silika dengan ukuran partikel yang sesuai sehingga fase gerak dapat mengalir dengan baik. Pada kromatografi partisi fase balik, fase diam yang teradsorpsi bersifat kurang polar dari pada fase gerak dan zat penjerap dibuat non-polar dengan perlakuan yang sesuai menggunakan pereaksi silanisasi, seperti diklorodimetilsilan, sehingga dihasilkan tanah silika yang tersilanisasi untuk kromatografi.

Contoh yang akan dikromatografi umumnya dimasukkan ke dalam sistem kromatografi menggunakan salah satu dari dua cara berikut: (a) Larutan uji dalam sejumlah kecil fase gerak dimasukkan melalui bagian atas kolom, atau, (b) Larutan uji dalam sejumlah kecil fase diam dicampur dengan *penyangga padat* dan dimasukkan ke dalam kolom sebagai lapisan di atas campuran fase diam dan zat penjerap.

Eluasi dilakukan dengan pelarut yang mengalir seperti disebutkan sebelumnya. Umumnya sebelum digunakan, fase gerak dijenuhkan dahulu dengan fase diam.

Pada kromatografi partisi cair-cair yang konvensional, derajat partisi suatu senyawa tertentu diantara dua fase cair dinyatakan sebagai koefisien partisi atau koefisien distribusi. Dalam hal senyawa yang terdisosiasi, distribusi dapat diatur dengan modifikasi pH, tetapan dielektrik, kekuatan ion, serta sifat-sifat lain dari kedua fase tersebut. Eluasi selektif dari komponen-komponen suatu campuran dapat dicapai dengan mengubah fase gerak sampai diperoleh koefisien partisi yang lebih baik atau dengan mengubah pH fase diam secara *in situ* dengan suatu fase gerak, yang terdiri dari larutan asam atau basa yang sesuai dalam pelarut organik.

Jika tidak dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, maka penetapan kadar dan pengujian, yang menggunakan kromatografi kolom partisi, dilakukan menurut metode umum.

**Penyangga padat** Gunakan tanah silika yang telah dimurnikan. Pada kromatografi kolom partisi fase balik, gunakan tanah silika yang tersilanisasi untuk kromatografi.

**Fase diam** Gunakan pelarut atau larutan yang tertera dalam masing-masing monografi. Jika digunakan campuran cairan sebagai *fase diam*, campurkan cairan tersebut sebelum diadsorpsikan pada *penyangga padat*.

**Fase gerak** Gunakan pelarut atau larutan yang tertera dalam masing-masing monografi. Jenuhkan dengan air, jika *fase diam* merupakan larutan dalam air, jika *fase diam* merupakan cairan organik polar, jenuhkan dengan cairan tersebut.

**Pembuatan Kolom Kromatografi** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, tabung kromatografi mempunyai diameter dalam lebih kurang 22 mm dan panjang 200 - 300 mm, tanpa cakram kaca berpori. Pada tabung ini dihubungkan tabung pengalir tanpa keran, dengan diameter dalam lebih kurang 4 mm dan panjang lebih kurang 50 mm. Mampatkan segumpal wol kaca halus pada dasar tabung. Masukkan *fase diam* dengan volume tertentu, dalam gelas piala berukuran 100 ml sampai 250 ml. Tambahkan sejumlah tertentu *penyangga padat* dan campur hingga homogen. Masukkan campuran ini ke dalam tabung kromatografi dan mampatkan dengan tekanan sedang, agar diperoleh massa yang homogen. Jika jumlah *penyangga padat* ditentukan lebih dari 3 g, masukkan campuran ke dalam kolom sedikit demi sedikit dan mampatkan setiap penambahan sampai habis. Jika untuk penetapan kadar atau pengujian diperlukan kolom bersegmen banyak dengan *fase diam* yang berlainan untuk masing-masing segmen, lakukan pemampatan setiap penambahan tiap segmen, kemudian langsung ditambahkan segmen berikutnya.

Jika larutan uji dicampurkan dengan *fase diam*, masukkan secara kuantitatif ke dalam tabung, dengan membilas gelas piala yang dipakai untuk membuat campuran yang akan diuji dengan suatu campuran yang terdiri dari lebih kurang 1 g *penyangga padat* dan beberapa tetes pelarut yang dipakai untuk membuat larutan uji.

Mampatkan segumpal wol kaca halus di atas kolom. *Fase gerak* mengalir melalui kolom dengan laju alir sedang atau menetes perlahan-lahan jika menggunakan kromatografi fase balik.

**Prosedur** Masukkan *fase gerak* ke dalam ruang kosong di atas kolom dan biarkan mengalir melalui kolom oleh gaya gravitasi. Bilas ujung kolom kromatografi dengan lebih kurang 1 ml *fase gerak* sebelum mengubah komposisi *fase gerak* dan sesudah selesai eluasi. Jika zat uji ditambahkan pada kolom sebagai larutan dalam *fase gerak*, biarkan agar seluruhnya melalui isi kolom, kemudian tambahkan sejumlah kecil *fase gerak* beberapa kali, tiap kali biarkan pelarut mengalir seluruhnya melewati kolom, sebelum menambahkan sisa *fase gerak*. Bila pada penetapan kadar atau pengujian, dikehendaki pemakaian kolom kromatografi ganda yang dihubungkan secara seri serta penambahan *fase gerak* dalam jumlah terbagi, biarkan tiap bagian tersebut seluruhnya melewati kolom, dan bilas ujungnya tiap kali dengan *fase gerak*, sebelum penambahan sisa pelarut berikutnya.

### KROMATOGRAFI GAS (KG)

**Fase diam cair** Jenis ini dipakai dalam kolom kemasan dan kolom kapiler.

**Kolom Kemasan KG Fase diam cair** disalutkan pada penyangga padat yang *inert* dan halus, seperti tanah diatome, polimer berpori, atau karbon grafit, yang dikemas ke dalam kolom dengan diameter dalam 2 - 4 mm dan panjang 1 - 3 m.

**Fase diam padat** Jenis ini dipakai hanya untuk kolom kemasan. Pada kolom ini fase padat sebagai adsorben aktif, seperti alumina, silika, atau karbon, di kemas ke dalam kolom. Resin berpori poliaromatik yang digunakan pada kolom kemasan, tidak ditutupi dengan fase cair. [Catatan Kolom kemasan dan kolom kapiler harus disetimbangkan sebelum digunakan sampai garis dasar dan parameter lain telah stabil.]

**Peralatan** Kromatografi gas terdiri dari sumber gas pembawa, injektor, kolom, detektor, dan perangkat perekam. Injektor, kolom dan detektor dikontrol suhunya dan berbeda untuk setiap analisa. Jenis gas pembawa yaitu helium, nitrogen, atau hidrogen, tergantung kolom dan detektor yang digunakan. Jenis detektor yang digunakan tergantung senyawa yang dianalisa dan ditentukan dalam masing-masing monografi. Luaran detektor dibaca sebagai fungsi waktu, sedangkan respon alat diukur sebagai luas puncak atau tinggi puncak dan dibaca sebagai fungsi dari jumlah.

**Program Suhu** Panjang dan kualitas dari pemisahan KG dapat dikontrol dengan cara mengubah suhu pada kolom kromatografi. Jika diperlukan, program suhu tercantum pada masing-masing monografi dalam bentuk tabel. Pada tabel dicantumkan suhu awal, rentang perubahan suhu, suhu akhir, dan waktu retensi pada saat suhu akhir.

#### Prosedur

1. Lakukan kesetimbangan kolom, injektor, dan detektor dengan aliran gas pembawa sampai tercapai sinyal yang konstan.
2. Suntikkan sampel melalui septum injektor atau gunakan autosampler.
3. Mulia program suhu.
4. Rekam kromatogram.
5. Lakukan analisis seperti tertera pada masing-masing monografi.

### KROMATOGRAFI CAIR (KC)

Istilah kromatografi cair, yang digunakan dalam Farmakope Indonesia adalah kromatografi cair tekanan tinggi atau kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). KC merupakan teknik pemisahan berdasarkan fase diam berupa padatan dan fase gerak berupa cairan.

**Fase diam** Pemisahan dicapai melalui partisi, adsorpsi, atau proses pertukaran ion tergantung jenis fase diam yang digunakan. Fase diam yang umumnya digunakan adalah silika yang dimodifikasi atau butiran polimerik. Butiran dibuat dengan penambahan hidrokarbon rantai panjang. Jenis fase diam yang diperlukan dalam suatu pengujian dinyatakan dalam masing-masing monografi dan ditunjukkan oleh tanda "L" (lihat juga bagian Kolom Kromatografi, di bawah). Ukuran dari partikel sering disebutkan dalam monografi. Perubahan dalam jenis fase diam dan ukuran diatur dalam bagian *Kesesuaian Sistem*.

**Kolom Kromatografi** Bagian kolom termasuk baja tahan karat, baja tahan karat berlapis dan kolom polimer diisi dengan fase diam. Panjang dan diameter dalam kolom mempengaruhi pemisahan, selanjutnya ukuran kolom terdapat dalam masing-masing monografi. Perubahan dalam ukuran kolom didiskusikan pada bagian *Kesesuaian Sistem* pada bab ini. Lihat bagian *Kolom Kromatografi* untuk informasi lebih lanjut

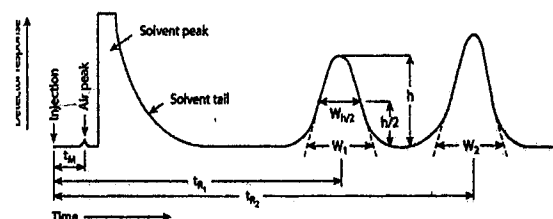
**Fase gerak** Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut seperti tertera dalam masing-masing monografi.

**Peralatan** Kromatografi cair terdiri dari wadah berisi fase gerak, pompa untuk mendorong fase gerak masuk ke dalam sistem dengan tekanan tinggi, injektor untuk memasukkan sampel ke dalam fase gerak, kolom kromatografi, detektor, dan perangkat pengumpul data.

**Eluasi Gradien** Perubahan komposisi fase gerak selama proses kromatografi disebut eluasi gradien atau program pelarut. Profil eluasi gradien terdapat dalam masing-masing monografi sebagai tabel gradien, yang mana diatur waktu dan perubahan komposisi fase gerak.

#### Prosedur :

1. Setimbangkan kolom dan detektor dengan fase gerak dengan laju alir tertentu sampai di capai kondisi konstan.
2. Suntikkan sampel melalui injektor, atau gunakan autosampler.
3. Program gradien dimulai.
4. Rekam kromatogram
5. Analisa kromatogram.



Gambar 1. Pemisahan kromatografi dua bahan

#### Kromatografi Eksklusi-ukuran

Kromatografi eksklusi-ukuran adalah KCKT yang memisahkan molekul di dalam larutan berdasarkan

ukurannya. Metode kromatografi eksklusi-ukuran dibagi atas metode kromatografi perembesan (permeasi) gel dan metode kromatografi penyaringan (filtrasi) gel. Kromatografi perembesan (permeasi) gel menggunakan fase gerak organik non-polar dan kemasan hidrofilik. Kromatografi penyaringan (filtrasi) gel menggunakan fase gerak yang mengandung air dan kemasan hidrofobik. Sampel dimasukkan ke dalam kolom yang berisi bahan pengemas gel atau partikel berpori dan dibawa melewati kolom oleh fase gerak. Pemisahan ukuran molekul terjadi melalui pertukaran berulang molekul zat terlarut antara pelarut fase gerak dan pelarut yang sama di dalam fase diam dalam pori-pori bahan pengisi kolom. Rentang ukuran pori dari bahan pengisi menentukan rentang ukuran molekul dimana pemisahan akan terjadi.

Molekul yang cukup kecil akan masuk ke seluruh ruang pori dan mengeluasi pada volume total permeasi,  $V_T$ . Molekul yang lebih besar dari ukuran maksimum pori bahan pengisi akan bermigrasi sepanjang kolom hanya melalui ruang di antara partikel bahan pengisi tanpa ditahan dan dieluasi pada volume eksklusi,  $V_0$  (volume kosong). Pemisahan berdasarkan ukuran molekul terjadi antara volume eksklusi dan volume total permeasi, pemisahan biasanya terjadi pada bagian dua per tiga rentang ini.

Alat Bagian dari kromatografi seperti tertera pada KCKT.

**Kolom** Jika diperlukan, kolom dilengkapi dengan pengatur suhu. Kolom diisi dengan bahan pemisah yang mampu melakukan fraksinasi ukuran molekular yang rentangnya sesuai dan fase gerak dapat mengalir dengan laju yang tetap. Satu ujung kolom biasanya dilengkapi dengan alat yang sesuai untuk memasukkan sampel, misalnya adaptor laju, syring melalui septum atau katup injeksi dan juga dapat dihubungkan pada pompa yang sesuai untuk mengontrol aliran fase gerak. Sebagai alternatif sampel dapat langsung dimasukkan ke dalam permukaan yang rata atau bila sampel lebih pekat dari fase gerak dapat dimasukkan bersamaan fase gerak. Bahan pengisi dapat berupa penyangga lunak seperti gel mengembang atau penyangga padat seperti kaca, silika atau pelarut yang sesuai, polimer organik berikatan silang. Penyangga padat biasanya memerlukan sistem bertekanan yang memberikan pemisahan lebih cepat. Fase gerak dipilih berdasarkan jenis sampel, media pemisahan dan metode deteksi.

**Detektor** Saluran luaran dari kolom biasanya dihubungkan dengan detektor yang sesuai yang dilengkapi dengan suatu perekam otomatis untuk memantau kadar relatif komponen yang dipisahkan dari sampel. Detektor didasarkan pada sifat fotometri, refraktometri atau luminesen (lihat *Detektor* pada KCKT). Jika perlu dapat dipasang suatu pengumpul fraksi otomatis.

**Prosedur** Sebelum melakukan pemisahan, bahan pengemas dijenuhkan dan kolom dilapisi sesuai dengan monografi atau berdasarkan instruksi dari pabrik. Jika perlu, lakukan prosedur untuk verifikasi kesesuaian sistem seperti tertera pada masing-masing monografi. Efisiensi kolom dapat dievaluasi dari jumlah lempeng

teoritis,  $N$  (lihat *interpretasi kromatogram*). Sifat komponen yang dielusi dalam kolom tertentu dinyatakan dengan koefisien distribusi,  $K_D$ , yang dihitung dengan rumus :

$$\frac{(V_1 - V_0)}{(V_T - V_0)}$$

$V_0$ ,  $V_T$  dan  $V_1$  adalah volume retensi untuk komponen yang tidak tertahan, komponen yang tertahan di dalam pori-pori peyangga dan komponen yang diuji. Masing-masing volume retensi diukur dari saat penyuntikan sampai puncak maksimum.

**Penetapan Komponen Relatif terhadap Komposisi dari Campuran** Lakukan pengujian dengan kondisi seperti tertera pada masing-masing monografi. Amati elusi dari komponen secara terus-menerus dan ukur luas puncak. Jika semua komponen yang diuji menunjukkan respon yang setara terhadap sifat fisika-kimia yang dimonitor (misalnya, jika komponen menunjukkan sifat absorptivitas), maka hitung jumlah relatif masing-masing komponen dengan membagi luas puncak dengan jumlah seluruh luas puncak komponen yang diuji. Jika respon tidak setara, hitung komposisi relatif komponen dengan kurva kalibrasi yang diperoleh dari prosedur kalibrasi seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Penetapan bobot molekul** Kromatografi eksklusi-ukuran digunakan untuk menetapkan bobot molekul komponen uji dengan membandingkan terhadap baku kalibrasi yang tertera pada masing-masing monografi. Buat kurva kalibrasi antara volume retensi baku terhadap logaritma bobot molekul. Buat garis yang menggambarkan hubungan antara eksklusi dengan batas permeasi total untuk media pemisahan khusus. Dari kurva kalibrasi dapat diperkirakan bobot molekul komponen zat uji. Kalibrasi ini absah hanya untuk sistem larutan-pelarut dari makro molekul yang digunakan dalam kondisi penetapan yang telah ditetapkan.

**Penetapan distribusi bobot molekul polimer** Bahan yang digunakan untuk kalibrasi dan metode yang digunakan untuk penetapan dari distribusi bobot molekul polimer seperti tertera pada masing-masing monografi. Perbandingan sampel dinyatakan absah hanya jika hasil yang diperoleh dalam kondisi penetapan yang sama.

## DEFINISI DAN INTERPRETASI KROMATOGRAM

**Kromatogram** Kromatogram adalah grafik yang mewakili respons detektor, konsentrasi suatu analit dalam *effluent*, atau jumlah lain yang digunakan untuk menghitung konsentrasi *effluent* terhadap volume *effluent* atau waktu. Pada kromatografi planar, kromatogram dapat berupa kertas atau lapisan yang memiliki bercak yang terpisah.

Gambar 1 Mewakili tipe pemisahan kromatografi dari dua senyawa, 1 dan 2.  $t_{R1}$  dan  $t_{R2}$  adalah waktu retensi, dan  $h$  adalah tinggi,  $h/2$  adalah setengah tinggi, dan  $Wh/2$  adalah luas pada setengah tinggi, untuk puncak 1.  $W_1$  dan  $W_2$  adalah luas puncak 1 dan 2 dihitung dari garis dasar.

Puncak udara dalam kromatogram gas berhubungan dengan batas pelarut di dalam kromatografi cair. Waktu retensi dari puncak udara atau komponen yang tidak tertahan, dilambangkan dengan  $t_M$ .

**Dwell Volume (D)** Disebut juga *gradient delay volume* adalah volume antara titik awal fase gerak dan ujung kolom.

**Hold-Up Time ( $t_M$ )** Adalah waktu yang diperlukan untuk eluasi senyawa yang tidak ditahan di kolom (lihat gambar 1), ditunjukkan sebagai udara atau puncak pelarut yang tidak ditahan, dengan skala garis dasar dalam menit.

**Hold-Up Volume ( $V_M$ )** Volume fase gerak yang dibutuhkan untuk eluasi komponen yang tidak ditahan. Dapat dihitung dari *hold up time* dan laju alir  $F$ , dalam mm per menit:

$$V_M = t_M \times F$$

Pada kromatografi eksklusi, digunakan simbol  $V_o$ .

**Jumlah Lempeng Teoritis (N)** Adalah pengukuran efisiensi kolom. Untuk Puncak Gaussian, dihitung dengan rumus:

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{W} \right)^2$$

$t_R$  adalah waktu retensi suatu senyawa, dan  $W$  adalah luas puncak dari dasar, diperoleh dari perhitungan garis lurus disamping puncak ke garis dasar. Nilai  $N$  tergantung dari senyawa pada hasil kromatogram sesuai dengan kondisi operasional. Seperti laju alir dan suhu dari fase gerak atau gas pembawa, kualitas dari kemasan kolom, dan keseragaman pengemasan kolom, dan pada kolom kapiler, ketebalan dari film fase diam dan diameter internal serta panjang kolom.

Ketika integrator elektronik digunakan, sesuai untuk menentukan jumlah lempeng teoritis, berdasarkan rumus :

$$N = 5,54 \left( \frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2$$

$W_{h/2}$  adalah luas puncak pada setengah tinggi puncak. Bagaimanapun, adanya perbedaan persepsi, hanya rumus dengan luas puncak dari garis dasar yang digunakan.

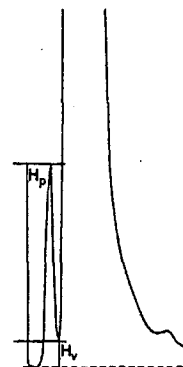
**Puncak** adalah bagian dari kromatogram dari respons detektor ketika senyawa tunggal dieluasi dari kolom. Apabila pemisahan tidak lengkap, dua atau lebih komponen bisa jadi tereluasi sebagai puncak yang pecah.

**Perbandingan Puncak terhadap lembah ( $p/v$ )** Nilai  $p/v$  digunakan sebagai kriteria kesesuaian sistem dalam pengujian untuk zat terkait ketika garis dasar untuk pemisahan antara dua puncak tidak tercapai. Gambar 2 merupakan pemisahan sebagian dari dua zat, dimana  $H_p$  adalah tinggi dihitung dari tinggi puncak terkecil diatas

garis dasar dan  $H_v$  adalah tinggi dihitung dari titik terendah antara dua puncak yang terpisah dari garis dasar.

$$\frac{p}{v} = \frac{H_p}{H_v}$$

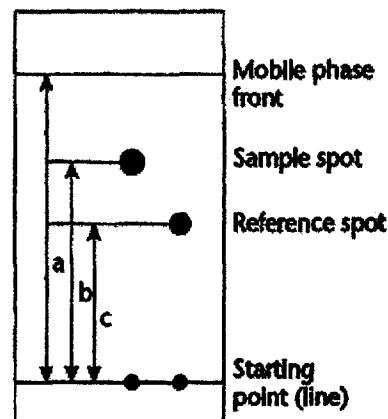
$$p/v = H_p/H_v$$



Gambar 2. Penetapan perbandingan puncak terhadap lembah

**Hambatan relatif ( $R_{ret}$ )** adalah perbandingan dari jarak yang ditempuh oleh analit terhadap jarak yang ditempuh oleh senyawa pembanding (lihat Gambar 3) dan digunakan dalam kromatografi planar.

$$R_{ret} = \frac{b}{c}$$



Gambar 3. Tipe kromatografi planar.

**Retensi relatif ( $r$ )** Adalah perbandingan dari waktu retensi suatu komponen relatif terhadap komponen lainnya yang digunakan sebagai pembanding yang sesuai pada kondisi yang sama.

$$R = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M}$$

$t_{R2}$  adalah waktu retensi diukur dari titik injeksi suatu senyawa target,  $t_{R1}$  adalah waktu retensi diukur dari titik injeksi senyawa yang digunakan sebagai pembanding, dan  $t_M$  adalah waktu retensi dari marker yang tidak teretensi pada kondisi percobaan yang sama pada kolom yang sama.

**Waktu Retensi Relatif (WRR)** Atau dikenal sebagai retensi relatif yang tidak diatur. Di dalam FI biasanya dikenal dengan istilah retensi relatif yang tidak diatur, kecuali jika dinyatakan lain.

$$WRR = \frac{t_{R2}}{t_{R1}}$$

Simbol  $r_G$  juga dapat digunakan untuk melambangkan retensi relatif yang tidak diatur.

**Simpangan Baku Relatif (SBR)** dalam persentase

$$\%SBR = \frac{100}{x} \left[ \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1} \right]^{1/2}$$

**Faktor hambatan ( $R_F$ )** Adalah perbandingan dari jarak yang ditempuh dari pusat bercak terhadap jarak keseluruhan yang ditempuh oleh fase gerak dan digunakan dalam kromatografi planar. Dengan menggunakan simbol dalam Gambar 3 :

$$R_F = \frac{b}{a}$$

**Faktor retensi ( $k'$ )** : juga dikenal dengan sebutan faktor kapasitas ( $k'$ ). Didefinisikan sebagai:

$$k = \frac{\text{jumlah zat dalam fase diam}}{\text{jumlah zat dalam fase gerak}}$$

Atau

$$k = \frac{\text{waktu tempuh zat dalam fase diam}}{\text{waktu tempuh zat dalam fase gerak}}$$

Faktor retensi suatu komponen dapat ditentukan dari kromatogram :

$$k = \frac{(t_R - t_M)}{t_M}$$

**Waktu retensi ( $t_R$ )** Pada kromatografi cair dan kromatografi gas, waktu retensi,  $t_R$ , didefinisikan sebagai waktu yang ditempuh antara proses injeksi sampel dan munculnya puncak maksimum sebagai respons dari zona sampel yang terelusi. Kromatogram waktu retensi merupakan karakteristik suatu senyawa tapi tidak khas. Adanya waktu retensi suatu sampel dan zat pembanding dapat digunakan sebagai kriteria sebagian dalam

pembuatan dan profil identifikasi tapi bisa jadi tidak cukup hanya untuk identifikasi. Waktu retensi absolut yang diberikan oleh senyawa berbeda dari kromatogram satu dengan lainnya.

**Volume Retensi ( $V_R$ )** Adalah volume fase gerak yang dibutuhkan untuk mengelusi suatu komponen. Dapat dihitung dari waktu retensi dan laju alir dalam mL per menit:

$$V_R = t_R \times F$$

**Resolusi ( $R_s$ )** Adalah pemisahan antara dua komponen dalam suatu campuran, dihitung dengan :

$$R_s = 2 \frac{(t_{R1} - t_{R2})}{W_1 + W_2}$$

$t_{R2}$  dan  $t_{R1}$  adalah waktu retensi dari dua komponen, dan  $W_2$  dan  $W_1$  adalah luas puncak dihitung dari lebar dan tinggi puncak diukur dengan garis lurus disamping puncak dari garis dasar.

Apabila integrasi elektronik digunakan, rumus yang sesuai untuk menentukan resolusi adalah :

$$R_s = 1,18 \frac{(t_{R1} - t_{R2})}{(W_{1,h/2} + W_{2,h/2})}$$

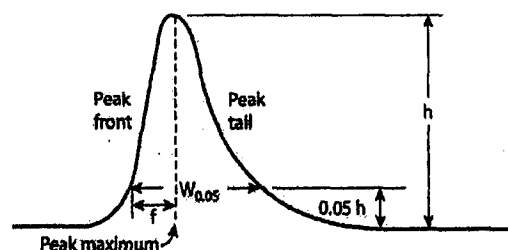
**Faktor pemisahan ( $\alpha$ )** Adalah retensi relatif yang dihitung untuk dua puncak yang berdekatan (ketentuan, nilai faktor pemisahan selalu  $>1$ ) :

$$A = \frac{k_2}{k_1}$$

**Faktor simetri ( $A_s$ )** Faktor simetri dikenal juga dengan sebutan *faktor ikutan* suatu puncak (lihat gambar 4) dihitung dengan :

$$A_s = \frac{W_{0,005}}{2f}$$

$W_{0,005}$  adalah lebar puncak pada 5% tinggi dan  $f$  adalah jarak dari puncak maksimum terhadap tepi puncak, jarak diukur dari titik 5% tinggi puncak dari garis dasar



Gambar 4. Puncak kromatografi asimetri

**Faktor ikutan (T)** lihat bagian faktor simetri.

**Kesesuaian Sistem**

Uji kesesuaian sistem adalah bagian integral dari metode kromatografi cair dan kromatografi gas. Uji ini digunakan untuk verifikasi bahwa sistem kromatografi memadai untuk analisis tersebut.

Faktor yang mempengaruhi kondisi kromatografi adalah sebagai berikut :

- Komposisi, kekuatan ion, suhu, dan pH fase gerak
- Laju alir, ukuran kolom, suhu kolom, dan tekanan
- Karakteristik fase diam, termasuk jenis pendukung kromatografi (berbahan partikel dan monolitik), partikel atau ukuran berpori besar, porositas dan permukaan area tertentu.
- Fase terbalik dan modifikasi permukaan lain suatu fase diam, modifikasi bahan kimia yang luas (seperti *end-capping, loading carbon*, dan lain-lain.)

Resolusi,  $R_s$ , adalah fungsi dari jumlah lempeng teoritis,  $N$  (juga disebut efisiensi), faktor pemisahan,  $\alpha$ , dan faktor kapasitas,  $k$ . [Catatan Semua istilah dan simbol didefinisikan pada bagian sebelumnya Definisi dan Interpretasi Kromatogram.] Untuk fase gerak dan fase diam yang diberikan,  $N$  dapat ditentukan untuk memastikan bahwa elusi komponen yang dekat terpisah satu sama lainnya, untuk menetapkan kekuatan pemisahan secara umum dalam suatu sistem, dan untuk memastikan bahwa pembandingan internal terpisah dari senyawa obat. Hal ini adalah cara yang sedikit dipercaya untuk memastikan resolusi dibanding pengukuran langsung. Efisiensi kolom adalah bagian, dari refleksi ketajaman suatu puncak, sangat penting untuk mendeteksi komponen kecil.

Injeksi berulang larutan baku atau larutan baku lainnya perlu dilakukan untuk mengetahui apakah memenuhi persyaratan presisi. Kecuali jika dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, data dari 5 injeksi berulang suatu analit digunakan untuk menghitung, Simpangan Baku Relatif, %SBR, apabila persyaratannya adalah 2,0% atau kurang; dan data dari 6 injeksi berulang digunakan apabila persyaratan untuk SBR lebih dari 2,0%.

Untuk penetapan dalam monografi zat obat, dimana nilai untuk zat murni adalah 100%, dan tidak ada ketentuan maksimum untuk SBR, %SBR yang dibolehkan dihitung untuk injeksi berulang dari larutan baku adalah:

$$\%SBR = \frac{KB\sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}}$$

$K$  adalah konstanta (0,349), didapat dari persamaan:

$$K = (0,6/\sqrt{2}) \times (t_{90\%, 5/\sqrt{6}})$$

dimana  $0,6/\sqrt{2}$  mewakili persentase SBR yang dibutuhkan setelah enam kali injeksi untuk  $B = 1,0$ ;  $B$  adalah batas atas dinyatakan dalam definisi masing-masing monografi

minus 100%,  $n$  adalah jumlah replikasi injeksi suatu larutan pembanding ( $3 \leq n \leq 6$ ); dan  $t_{90\%,n-1}$  adalah *Students t* pada level kemungkinan 90% (dua sisi) dengan  $n-1$  derajat kebebasan.

Kecuali jika dinyatakan lain yang telah ditentukan, SBR maksimum yang dibolehkan tidak boleh melampaui nilai yang ditetapkan seperti tertera pada tabel persyaratan keberulangan.

Persyaratan Simpangan baku Relatif (SBR)

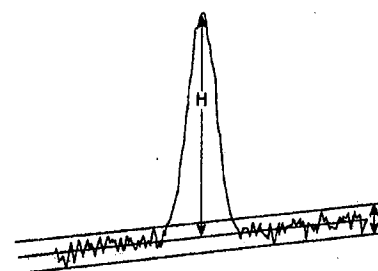
B(%)	Jumlah masing-masing injeksi			
	3	4	5	6
	Nilai SBR maksimal yang dibolehkan			
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06
3,0	0,62	0,89	1,10	1,27

Faktor simetri,  $A_s$ , ukuran simetri suatu puncak, adalah satuan untuk puncak yang sangat simetris, dan nilainya meningkat selama *tailing* bertambah (lihat Gambar 4). Pada beberapa kasus, nilai yang kurang dari kesatuan dapat diamati. Simetri suatu puncak menjauh dari angka 1, integrasi, dan oleh karena itu presisi menjadi kurang dipercaya.

Perbandingan *signal to noise* (S/N) berguna untuk parameter kesesuaian sistem. S/N dapat dihitung sebagai berikut :

$$\frac{S}{N} = \frac{2H}{h}$$

$H$  adalah tinggi puncak yang diukur dari puncak ke garis dasar yang telah dihitung dengan jarak  $\geq 5$  kali lebar setengah tinggi puncak dan  $h$  adalah perbedaan antara noise tertinggi dengan noise terendah yang diamati pada jarak lebih  $\geq 5$  kali lebar pada setengah tinggi puncak dan, apabila memungkinkan, kondisikan hal yang sama untuk daerah sekeliling puncak yang diinginkan (lihat Gambar 5).



Gambar 5 Noise and Chromatographic peak, componen of the S/N ratio.

Uji Kesesuaian Sistem ini dilakukan dengan cara mengumpulkan data dari penginjekan berulang larutan baku atau larutan lainnya yang telah ditetapkan dalam masing-masing monografi.

Spesifikasi dari penetapan parameter di dalam monografi tidak membatasi penggunaan dari kondisi operasional yang sesuai lainnya. Penetapan dibolehkan hanya ketika :

- Baku yang sesuai (termasuk Baku Pembanding) tersedia untuk semua senyawa yang digunakan dalam uji stabilitas; dan
- Larutan baku tersebut menunjukkan bahwa penetapan meningkatkan kualitas dari kromatogram yang memenuhi persyaratan kesesuaian.

Penetapan untuk sistem kromatografi dilakukan untuk memenuhi persyaratan kesesuaian tidak dibuat untuk mengganti kegagalan kolom atau kegagalan sistem.

Apabila pengaturan kondisi operasional penting dalam rangka memenuhi persyaratan kesesuaian, masing-masing hal dalam daftar berikut adalah variasi maksimal yang dapat dianggap, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi; perubahan ini bisa jadi membutuhkan data validasi tambahan. Untuk melakukan verifikasi terhadap kesesuaian sistem dengan kondisi baru, nilai karakteristik dari performa analitikal sejenis dipengaruhi oleh perubahan. Pengaturan multipel dapat mempengaruhi secara kumulatif pada kinerja suatu sistem dan harus dipertimbangkan secara hati-hati sebelum diterapkan. Pengaturan terhadap komposisi fase gerak dalam elusi gradien tidak direkomendasikan. Apabila pengaturan dianggap penting, hanya perubahan kolom (bahan kemasan sama) atau pengaturan *dwell volume* direkomendasikan.

**pH Fase Gerak (KCKT)** pH suatu larutan dapar yang digunakan dalam pembuatan fase gerak dapat ditetapkan menjadi  $\pm 0,2$  satuan nilai atau rentang yang ditentukan.

**Kadar garam dalam dapar (KCKT)** Kadar garam yang digunakan dalam pembuatan larutan dapar untuk fase gerak dapat di tetapkan menjadi  $\pm 10\%$  apabila variasi pH yang dibolehkan (lihat diatas) dicapai.

**Perbandingan komponen dalam fase gerak (KCKT)** Penetapan berikut membatasi dilakukan pada komponen minor fase gerak (ditentukan pada 50% atau kurang). Jumlah komponen ini dapat di atur dengan relatif  $\pm 30\%$ . Bagaimanapun, perubahan terhadap beberapa komponen tidak dapat melebihi  $\pm 10\%$  absolut (contohnya : berkaitan dengan jumlah fase gerak). Pengaturan dapat dibuat pada satu komponen minor dalam campuran berikut.

#### **Campuran Binary**

*Perbandingan 50:50* 30% dari 50 adalah 15%, tapi ini melebihi perubahan maksimal yang dibolehkan dari  $\pm 10\%$  dalam komponen lain. Oleh karena itu, perbandingan fase gerak dapat diatur hanya pada rentang 40:60 sampai 60:40.

*Perbandingan 2:98* 30% dari 2 adalah 15%. Oleh karena itu pengaturan maksimal yang dibolehkan adalah pada rentang 1,4 : 98,6 sampai 2,6 : 97,4.

#### **Campuran Ternary**

*Perbandingan 60:35:5* Untuk komponen kedua, 30% dari 35 adalah 10,5%, yang mana perubahan maksimal yang dibolehkan  $\pm 10\%$  dalam sejumlah komponen. Untuk komponen ketiga, 30% dari 5 adalah 1,5% pada semua kasus, jumlah yang cukup dari komponen pertama digunakan untuk menghasilkan total 100%. Oleh karena itu rentang campuran adalah 50:45:5 sampai 70:25:5 atau 58,5: 35:6,5 sampai 61,5:35:3,5 akan memenuhi persyaratan.

#### **Panjang gelombang pada detektor UV-Vis (KCKT)**

Deviasi dari panjang gelombang yang ditentukan dalam prosedur tidak dibolehkan. Prosedur ditentukan oleh pabrik pembuat detektor, atau prosedur validasi lainnya, yang digunakan untuk menverifikasi kesalahan dalam panjang gelombang detektor adalah, umumnya  $\pm 3$  nm.

#### **Fase diam**

*Panjang kolom (KG, KCKT)* Dapat diatur  $\pm 70\%$ .

*Diameter internal kolom (KCKT)* Dapat diatur apabila kecepatan linear dijaga konstan. Lihat laju alir (KCKT) dibawah.

*Diameter internal kolom (KG)* Dapat diatur  $\pm 50\%$  untuk KG.

*Ketebalan film (kolom kapiler KG)* Dapat diatur  $\pm 50\%$  sampai 100%.

**Ukuran partikel (KCKT)** Dapat dikurangi sebanyak 50%, tapi tidak dapat diperbanyak.

**Ukuran partikel (KG)** Berubah dari ukuran partikel yang besar ke yang kecil atau dari yang kecil ke ukuran partikel yang lebih besar apabila memenuhi persyaratan kromatografi untuk kesesuaian sistem dan perbandingan perubahan ukuran partikel yang sama dipertahankan. Perbandingan perubahan ukuran partikel didefinisikan sebagai diameter dari partikel terbesar dibagi dengan diameter partikel terkecil.

**Laju alir (KG)** Dapat diatur sebanyak  $\pm 50\%$ .

**Laju alir (KCKT)** Jika ukuran kolom diubah, laju alir dapat diatur dengan menggunakan rumus :

$$F_2 = F_1 \frac{I_2 d_2^2}{I_1 d_1^2}$$

$F_1$  adalah laju alir yang ditunjukkan dalam monografi dalam ml per menit;  $F_2$  adalah laju alir yang telah diatur, dalam ml per menit;  $I_1$  adalah panjang kolom yang sesuai dengan monografi,  $I_2$  adalah panjang kolom yang digunakan,  $d_1$  adalah diameter dalam kolom yang sesuai dalam monografi,  $d_2$  adalah diameter dalam kolom yang digunakan. Sebagai tambahan, laju lair dapat diatur sampai dengan  $\pm 50\%$ .



**Volume injeksi (KCKT)** Volume injeksi dapat diubah selama memenuhi presisi dan limit deteksi; tidak ada penambahan volume dibolehkan.

**Volume injeksi dan Volume Split (KG)** Volume injeksi dan volume split dapat disesuaikan apabila deteksi dan keberulangan memuaskan.

**Suhu kolom (KCKT)** Suhu kolom dapat diatur sebanyak  $\pm 10^\circ$ . Suhu kolom disarankan untuk meningkatkan kontrol dan keterulangan waktu retensi.

**Suhu oven (KG)** Suhu oven dapat diatur sebanyak  $\pm 10\%$ .

**Program suhu oven (KG)** Pengaturan suhu dapat diatur sesuai dengan pernyataan diatas. Ketika suhu yang telah ditetapkan harus di pertahankan atau ketika suhu harus diubah dari nilai satu ke nilai lainnya, pengaturan sebanyak 20% dibolehkan.

Kecuali jika dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, parameter kesesuaian sistem ditentukan dari puncak analit. Nilai yang diukur,  $R$ , atau  $R_f$ , atau  $R_s$  untuk sampel suatu zat tidak berbeda jauh dengan nilai yang diperoleh dari senyawa pembanding dan campuran. Waktu retensi relatif terdapat dalam monografi untuk tujuan hanya informasi untuk membantu dalam identifikasi puncak. Tidak ada kriteria penerimaan yang dipakai dalam waktu retensi relatif.

Uji kesesuaian sistem digunakan untuk memastikan keefektifan sistem operasional. Yang mana harus dilakukan pada uji ini. Membuat injeksi suatu preparasi yang tepat dibutuhkan untuk memperlihatkan kesesuaian sistem yang cukup (seperti yang digambarkan dalam bagian metode sistem kromatografi dalam monografi).

Preparasi dapat berupa preparasi larutan baku atau larutan yang mengandung jumlah analit yang diketahui dan beberapa penambahan bahan-bahan (misalnya ekspisien atau pengotor) yang digunakan dalam mengontrol sistem analisis. Ketika terjadi perubahan signifikan dalam sistem kromatografi (peralatan, komponen fase gerak, atau komponen lainnya) atau pereaksi kritical, uji kesesuaian sistem harus dilakukan kembali. Tidak ada analisis sampel diterima kecuali telah dilakukan uji kesesuaian sistem.

## KUANTITASI

Selama kuantitasi, abaikan puncak yang disebabkan oleh pelarut ataupun pereaksi atau muncul karena adanya fase gerak ataupun matriks sampel.

Dalam rentang linier, luas puncak dan tinggi puncak biasanya sebanding untuk kuantitasi elusi suatu senyawa. Luas puncak dan tinggi puncak biasanya diukur dengan cara integrator elektronik tapi dapat juga ditentukan dengan cara pendekatan klasikal. Luas puncak umumnya digunakan tapi bisa jadi tidak akurat apabila terjadi interferensi. Komponen yang diukur dipisahkan dari beberapa komponen yang bercampur. Puncak yang *tailing* dan *fronting* dikurangi, dan pengukuran puncak

yang berekor dengan puncak lainnya dihindari apabila dimungkinkan.

Walaupun perbandingan suatu puncak pengotor dengan lainnya dalam suatu kromatogram dari suatu baku pada kadar yang sama lebih disukai, uji pengotor bisa juga berdasarkan pengukuran respon puncak dimana pengotor diperlihatkan sebagai persentase dari luas suatu puncak obat. Baku bisa jadi obat itu sendiri atau level yang berhubungan dengan itu, misalnya, 0,5% pengotor, dianggap sama dengan respon puncak. Ketika pengotor harus ditentukan dengan sangat pasti, gunakan baku dari pengotor itu sendiri atau lakukan faktor koreksi berdasarkan respons relatif pengotor terhadap komponen utama.

**Metode baku eksternal** Analisis kuantitatif dari konsentrasi suatu komponen ditentukan dengan cara membandingkan respon yang dihasilkan oleh larutan sampel dengan respons dihasilkan oleh larutan baku.

**Metode Baku Internal** Jumlah yang sama dari baku internal dimasukkan ke dalam larutan sampel dan larutan baku. Baku internal yang dipilih tidak bereaksi dengan bahan yang diuji, stabil, terpisah dari analit, dan tidak mengandung pengotor dengan waktu retensi yang sama dengan analit. Konsentrasi suatu analit ditentukan dengan cara membandingkan rasio luas puncak dan tinggi puncak analit dengan baku internal dalam larutan baku.

**Prosedur normalisasi** Persentase kandungan suatu komponen dihitung dengan cara menentukan luas puncak yang dimaksud dengan total luas dari semua puncak yang ada, kecuali puncak yang dihasilkan karena adanya pengaruh pelarut atau pereaksi, atau muncul karena adanya fase gerak ataupun matriks sampel, dan puncak yang berada dibawah limit deteksi yang semuanya dapat diabaikan.

**Prosedur kalibrasi** Hubungan antara pengukuran atau evaluasi signal  $y$  dan dan kuantitasi (misalnya kadar, bobot), dengan senyawa  $x$  ditentukan, dan fungsi kalibrasi dihitung. Hasil analisis dihitung dari pengukuran signal atau evaluasi signal suatu analit dan posisinya dari kurva kalibrasi.

Pada uji untuk pengotor pada metode baku eksternal, ketika pengenceran larutan sampel digunakan untuk perbandingan, dan prosedur normalisasi, adanya faktor koreksi ditunjukkan dalam monografi (misalnya ketika faktor respon di luar rentang 0,8 – 1,2). Ketika uji pengotor menentukan total jumlah pengotor atau adanya penentuan kuantitatif suatu pengotor, pilihan pengaturan yang tepat dan integrasi yang tepat untuk integrasi luas puncak adalah penting, dalam beberapa uji, batas pada atau dibawah dimana puncak bisa diabaikan umumnya 0,05%. Selanjutnya batas pengaturan dari sistem pengumpulan data sesuai dengan setidaknya setengah dari batas. Integrasi luas puncak pada beberapa pengotor yang tidak sepenuhnya terpisah dari puncak utama, sebaiknya berdasarkan ekstrapolasi lembah terhadap lembah (*tangential skim*).

## KOLOM KROMATOGRAFI

Daftar isi kolom (L), fase (G) dan penyangga (S) berikut ini merupakan acuan bagi pemakai kromatograf. [Catatan Ukuran partikel dalam daftar ini merupakan ukuran yang umum digunakan. Apabila diperlukan ukuran partikel yang lain, umumnya yang lebih halus, maka ukuran tersebut dinyatakan pada masing-masing monografi. Untuk suatu kategori isi kolom atau fase yang tercantum dalam daftar dibawah ini, tersedia berbagai kolom. Apabila kondisi kromatografi perlu dinyatakan secara lebih spesifik maka hal itu dinyatakan pada masing-masing monografi.]

### Isi Kolom

L1 Oktadesil silana terikat secara kimiawi pada partikel mikro silika berpori atau partikel mikro keramik, dengan diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ , atau batang silika monolitik.

L2 Oktadesil silana terikat secara kimiawi pada silika gel dengan porositas permukaan yang diatur dan terikat pada suatu inti bulat padat diameter 30 - 50  $\mu\text{m}$ .

L3 Partikel silika berpori, diameter 5 - 10  $\mu\text{m}$ .

L4 Silika gel dengan porositas permukaan yang diatur dan terikat pada suatu inti bulat padat, diameter 30 - 50  $\mu\text{m}$ .

L5 Alumina dengan porositas permukaan yang diatur, dan terikat pada suatu inti bulat padat, diameter 30 - 50  $\mu\text{m}$ .

L6 Penukar kation kuat berupa polimer fluoro karbon tersulfonasi dilapiskan pada suatu inti bulat padat, diameter 30 - 50  $\mu\text{m}$ .

L7 Oktilsilana terikat secara kimiawi pada partikel silika yang berpori seluruhnya, diameter 1,7 - 10  $\mu\text{m}$ .

L8 Suatu lapisan monomolekuler aminopropil silana yang terikat secara kimiawi pada penyangga silika gel yang berpori seluruhnya, diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ .

L9 Silika gel tak beraturan, ukuran 3 - 10  $\mu\text{m}$ , yang seluruhnya berpori dan diberi lapisan penukar kation yang bersifat asam kuat dan terikat secara kimiawi.

L10 Gugus nitril yang terikat secara kimiawi pada partikel silika berpori, diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ .

L11 Gugus fenil yang terikat secara kimiawi pada partikel silika berpori, diameter 1,7 - 10  $\mu\text{m}$ .

L12 Suatu penukar anion kuat untuk isi kolom yang dibuat dari amina kuartener yang terikat secara kimiawi pada inti silika bulat padat, diameter 30 - 50  $\mu\text{m}$ .

L13 Trimetilsilana yang terikat secara kimiawi pada partikel silika berpori, diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ .

L14 Silika gel, diameter 5 - 10  $\mu\text{m}$ , dengan lapisan penukar anion ammonium kuartener yang bersifat basa kuat dan terikat secara kimiawi.

L15 Heksilsilana yang terikat secara kimiawi pada partikel silika yang berpori seluruhnya, diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ .

L16 Dimetilsilana yang terikat secara kimiawi pada partikel silika berpori, diameter 5 - 10  $\mu\text{m}$ .

L17 Resin penukar kation kuat yang terdiri dari kopolimer ikatan silang stirena-divinilbenzena tersulfonasi dalam bentuk hidrogen, diameter 7 - 11  $\mu\text{m}$ .

L18 Gugus amino dan siano yang terikat secara kimiawi pada partikel silika berpori, diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ .

L19 Resin penukar kation kuat yang terdiri dari kopolimer ikatan silang stirena-divinilbenzena tersulfonasi dalam bentuk kalsium, diameter lebih kurang 9  $\mu\text{m}$ .

L20 Gugus dihidroksipropan yang terikat secara kimiawi pada partikel silika berpori, diameter 5 - 10  $\mu\text{m}$ .

L21 Suatu kopolimer stirena-divinilbenzena ber bentuk bulat yang kaku, diameter 5 - 10  $\mu\text{m}$ .

L22 Resin penukar kation terbuat dari gel poli stiren yang berpori dengan gugus asam sulfonat, ukuran lebih kurang 10  $\mu\text{m}$ .

L23 Resin penukar anion terbuat dari gel polimeta krilat atau poliakrilat berpori dengan gugus amonium kuartener, ukuran lebih kurang 10  $\mu\text{m}$ .

L24 Gel hidrofil setengah kaku yang terdiri dari polimer vinil, dengan beberapa gugus hidroksi pada permukaan matriks, diameter 32 - 63  $\mu\text{m}$ .

L25 Isi kolom dengan kemampuan untuk memisahkan senyawa-senyawa dengan bobot molekul 100 hingga 5000 (ditentukan sebagai polietilen oksida), yang dipakai untuk polimer larut air yang bersifat netral, anionik dan kationik. Yang sesuai untuk digunakan adalah resin polimetakrilat yang mempunyai ikatan silang dengan eter polihidroksil (permukaannya mengandung sedikit sisa gugus fungsi karboksil).

L26 Butil silana yang terikat secara kimiawi pada partikel silika yang berpori seluruhnya, diameter 3 - 10  $\mu\text{m}$ .

L27 Partikel silika berpori, diameter 30 - 50  $\mu\text{m}$ .

L28 Suatu penyangga multifungsi, yang terdiri dari substrat silika berbentuk bulat, dengan tingkat kemurnian tinggi, ukuran 100 Angstrom, yang terikat dengan gugus fungsi anion (amina) disamping fungsi fase terbalik C8 konvensional.

L29 Partikel polibutadiena-alumina berbentuk bulat (gamma alumina, fase balik, persen bobot karbon rendah), diameter 5  $\mu\text{m}$  dengan volume pori 80 Angstrom.

L30 Etil silana yang terikat secara kimiawi pada partikel silika yang berpori seluruhnya, diameter 3- 10  $\mu\text{m}$ .

L31 Resin penukar anion kuat, amina kuartener, selektif terhadap hidroksida, terikat pada partikel lateks pada inti partikel makro pori dengan diameter inti 8,5  $\mu\text{m}$  dengan ukuran pori 2000 angstrom mengandung ikatan silang etil-vinil benzena dengan divinilbenzena 55%.

L32 Suatu penukar ligan kiral untuk isi kolom kompleks kovalensi tembaga L-prolina yang terikat secara tidak teratur pada partikel silika, diameter 5 - 10  $\mu\text{m}$ .

L33 Kolom berisi silika berbentuk bulat dan diproses untuk memberikan stabilitas pH dengan kapasitas pemisahan molekul dekstran berukuran 4.000 - 500.000 Da.

L34 Resin penukar kation kuat yang terdiri dari ikatan silang kopolimer stirena-divinilbenzena tersulfonasi dalam bentuk garam Pb, diameter lebih kurang 9 $\mu$ m.

L35 Silika berbentuk bulat yang distabilisasi dengan zirkonium dan disalut dengan satu fase lapisan molekul hidrofilik (tipe diol) berpori dengan ukuran 150 $\text{Å}$ .

L36 Turunan 3,5 dinitrobenzoil dari L-fenilglisin yang terikat secara kovalen pada aminopropil silika yang berukuran 5 $\mu$ m

L37 Gel polimetakrilat dengan kapasitas pemisahan molekul protein berukuran 2.000 - 40.000 Da.

L38 Kolom eksklusi ukuran berisi basa metakrilat untuk zat uji yang larut dalam air.

L39 Gel polimetakrilat hidrofilik dari resin bulat yang berpori seluruhnya.

L40 Partikel silika berpori dengan diameter 5 - 20  $\mu$ m yang dilapisi selulosa tris 3-5-dimetilfenilkarbamat

L41  $\alpha_1$  Asam glikoprotein yang tidak bergerak pada partikel silika bulat dengan diameter 5  $\mu$ m.

L42 Gugus oktilsilana dan oktadesilsilana yang terikat secara kimia pada partikel silika berpori, diameter 5 $\mu$ m.

L43 Gugus pentafluorofenil yang terikat secara kimia pada partikel silika oleh propil "spacer", diameter 5 - 10  $\mu$ m.

L44 Penyangga multifungsional yang berisi substrat silika bulat dengan kemurnian tinggi 60  $\text{Å}$ , yang terikat dengan penukar kation, asam sulfonat, dalam fase balik konvensional C8.

L45 Beta siklodekstrin yang terikat pada partikel silika berpori, diameter lebih kurang 10 $\mu$ m

L46 Substrat polistirena/divinilbenzena yang teraglomerasi pada butiran lateks amonium kuarterner, diameter 10 $\mu$ m.

L47 Substrat mikropori penukar anion berkapasitas tinggi yang dibuat berfungsi dengan gugus trimetilamina diameter 8  $\mu$ m.

L48 Polistirena dengan ikatan silang tersulfonasi dengan butiran mikro penukar anion berpori, dengan lapisan luar submikron, diameter 15  $\mu$ m.

L49 Kolom fase balik yang berisi partikel zirkonia bulat berpori dengan lapisan tipis polibutadiena dengan diameter 3 - 10  $\mu$ m.

L50 Resin multifungsional dengan fase balik yang berfungsi sebagai penahan penukar anion kuat, berisi 55% ikatan silang etilvinilbenzena dengan polimer divinilbenzena, diameter 3 - 15  $\mu$ m, dan luas permukaan tidak kurang dari 350 m<sup>2</sup> per gram. Substrat disalut dengan partikel lateks yang difungsikan dengan ammonium kuarterner berisi ikatan silang stirena-divinilbenzena.

L51 Partikel silika bulat, disalut dengan amilosa tris 3,5-dimetilfenilkarbamat, diameter 5 - 10  $\mu$ m.

L52 Resin penukar kation kuat yang terbuat dari silika berpori dengan gugus sulfopropil, diameter 5 - 10  $\mu$ m.

L53 Resin penukar kation lemah terdiri dari ikatan silang etilvinilbenzena 55% dengan kopolimer divinilbenzena, diameter 3 - 15  $\mu$ m. Substrat merupakan permukaan dengan tambahan monomer difungsikan

dengan asam karboksilat dan/atau asam fosfat. Kapasitas tidak kurang dari 500  $\mu$ Eq per kolom.

L54 Kolom eksklusi ukuran yang terbuat dari ikatan kovalen dekstran dengan ikatan silang kuat butiran agarosa, diameter lebih kurang 13  $\mu$ m.

L55 Resin penukar kation kuat yang terbuat dari silika berpori yang dilapisi dengan kopolimer asam maleat-polibutadiena, diameter lebih kurang 5  $\mu$ m.

L56 Propilsilana yang terikat secara kimia pada partikel silika yang berpori seluruhnya, diameter 3 - 10  $\mu$ m.

L57 Ovomukoid yang diketahui sebagai protein kiral yang terikat secara kimia pada partikel silika, diameter lebih kurang 5  $\mu$ m dan ukuran pori 120 $\text{Å}$ .

L58 Resin penukar kation kuat yang terdiri dari ikatan silang kopolimer stirena-divinilbenzena tersulfonasi dalam bentuk garam natrium, diameter 7 - 11  $\mu$ m.

L59 Kolom berisi silika-basa bulat (10  $\mu$ m) dan dibuat dengan karakterisasi hidrofilik dan stabilitas pH yang mempunyai kapasitas pemisahan protein dengan berat molekul 10 - 500 kDa.

L60 - Silika gel bulat berpori dengan diameter 3 - 5  $\mu$ m yang permukaannya dimodifikasi dengan ikatan kovalen gugus palmitamido-propil dan "end-capped".

L61 Resin penukar anion kuat selektif terhadap hidroksida terdiri dari ikatan silang kuat pada inti partikel mikropori, ukuran 13  $\mu$ m, pori berukuran tidak kurang dari 10 $\text{Å}$  unit dan terdiri dari ikatan silang etilvinilbenzena dengan 55% divinilbenzena dengan lapisan lateks yang tersusun dari butiran mikro berukuran 85 nm, terikat dengan ion alkanol ammonium kuarterner 6%.

L62 Fase silana C30 terikat pada silika bulat yang berpori seluruhnya, diameter 3 - 15 $\mu$ m.

#### Fase

- G1 Minyak dimetilpolisiloksan
- G2 Gom dimetilpolisiloksan
- G3 Fenil 50%- metilpolisiloksan 50%
- G4 Poliester dietilen glikol suksinat
- G5 3-sianopropilpolisiloksan
- G6 Trifluoropropilmetilpolisiloksan
- G7 3-sianopropil 50%- fenilmetilsilikon 50%
- G8 bis (3-sianopropil) 80% - 3-sianopropil fenil polisiloksan 20% (persen menyatakan substitusi molar)
- G9 Metilvinilpolisiloksan
- G10 Poliamida yang dibentuk dengan mereaksikan asam C36 asam dikarboksilat dengan 1,3-di-4-piperidilpropan dan piperidin dalam perbandingan molekul 1,00: 0,90: 0,20.
- G11 Poliester bis(2-etilheksil)sebakat.
- G12 Poliester fenildietanolamina suksinat.
- G13 Sorbitol
- G14 Polietilen glikol (bobot molekul rata-rata 950 sampai 1050)
- G15 Polietilen glikol (bobot molekul rata-rata 3000 sampai 3700)
- G16 Senyawa polietilen glikol (bobot molekul rata-rata lebih kurang 15.000). Suatu senyawa berbobot molekul

tinggi yang terbentuk dari polietilen glikol dengan suatu ikatan diepoksida.

G17 Fenil 75% - metilpolisiloksan 25%

G18 Polialkilen glikol

G19 Fenil 25% - sianopropil 25% - metilsilikon 50%.

G20 Polietilen glikol (bobot molekul rata-rata 380 sampai 420).

G21 Neopentil glikol suksinat.

G22 Bis(2-etilheksil)ftalat.

G23 Polietilen glikol adipat.

G24 Diisodesil ftalat.

G25 Senyawa polietilen glikol TPA. Suatu senyawa berbobot molekul tinggi yang terbentuk dari suatu polietilen glikol dan suatu diepoksida yang diesterkan dengan asam tereftalat.

G26 2-sianoetil 25% - metilpolisiloksan 75%

G27 Fenil 5% - metilpolisiloksan 95%

G28 Fenil 25% - metilpolisiloksan 75%

G29 3,3'-Tiodipropionitril

G30 Tetraetilen glikol dimetil eter

G31 Nonilfenoksipoli(etilenoksi)etanol (panjang rantai etilenoksi rata-rata 30); Nonoksinol 30.

G32 Fenilmetil 20% - dimetilpolisiloksan 80%

G33 Karboran 20% - metilsilikon 80%

G34 Poliester dietilen glikol suksinat yang dibuat stabil dengan asam fosfat.

G35 Suatu senyawa berbobot molekul tinggi yang terbentuk dari suatu polietilen glikol dan suatu diepoksida yang diesterkan dengan asam nitrotereftalat.

G36 Vinil 1% - fenilmetilpolisiloksan 5%

G37 Poliiimida

G38 Fase G1 yang mengandung sejumlah kecil persentase penghambat pembentukan faktor ikutan.

G39 Polietilen glikol (bobot molekul rata-rata lebih kurang 1500)

G40 Etilenglikol adipat

G41 Fenilmetildimetilsilikon (tersubstitusi fenil sebanyak 10%)

G42 Fenil 35% - dimetilpolisiloksan 65% (persen menyatakan substitusi molar)

G43 Sianopropilfenil 6% - dimetilpolisiloksan 94% (persen menyatakan substitusi molar).

G44 Petrolatum hidrokarbon berbobot molekul rendah 2% dan 1% larutan kalium hidroksida.

G45 Divinilbenzena-etilen glikol-dimetilakrilat

G46 Sianopropilfenil 14% - metilpolisiloksan 86%

G47 Polietilen glikol (bobot molekul rata-rata lebih kurang 8000)

G48 Sianopolisiloksan berikatan silang sebagian dan bersifat sangat polar.

### Penyangga

[Catatan jika tidak disebutkan lain, ukuran yang dimaksud adalah 80 - 100 mesh atau sebagai alternatif 100 - 120 mesh.]

S1A Tanah silika untuk kromatografi gas, yang telah diflukskalsinasikan dengan jalan mencampurkan diatomit dengan natrium karbonat serta dikalsinasikan di atas suhu

900°. Tanah silika tersebut dicuci dengan asam, kemudian dicuci dengan air sampai netral, tetapi tidak dicuci dengan basa. Tanah silika itu dapat disilanisasikan dengan jalan diberi perlakuan dengan suatu pereaksi, seperti dimetildiklorosilan, untuk menutupi gugus silanol yang terdapat pada permukaan. Jika tidak disebutkan lain dalam monografi, yang dimaksudkan adalah penyangga yang tersilanisasi.

S1AB Tanah silika seperti yang disebutkan di atas dicuci dengan asam dan basa. Jika tidak disebutkan lain dalam monografi, yang dimaksudkan adalah penyangga yang tersilanisasi.

S1C Penyangga yang terbuat dari bata tahan api yang dihancurkan serta dikalsinasikan atau dibakar dengan pengikat tanah liat di atas suhu 900°, diikuti pencucian memakai asam, dan dapat disilanisasikan.

S1NS Tanah silika tanpa perlakuan.

S2 Kopolimer stirena-divinilbenzena dengan luas permukaan nominal kurang dari 50 m<sup>2</sup> per g dan diameter pori rata-rata 0,3 - 0,4 µm.

S3 Kopolimer dari etildivinilbenzena dan divinilbenzena dengan luas permukaan nominal 500 m<sup>2</sup> sampai 600 m<sup>2</sup> per g dan diameter pori rata-rata 0,0075 µm

S4 Kopolimer stirena-divinilbenzena dengan gugus -O- dan -N aromatik, yang mempunyai luas permukaan nominal 400 m<sup>2</sup> - 600 m<sup>2</sup> per g dan diameter pori rata-rata 0,0076 µm.

S5 Polimer tetrafluoroetilen dengan bobot molekul tinggi dan ukuran 40 - 60 mesh.

S6 Kopolimer stirena-divinilbenzena dengan luas permukaan nominal 250 - 350 m<sup>2</sup> per g dan diameter pori rata-rata 0,0091 µm

S7 Karbon grafit dengan luas permukaan nominal 12 m<sup>2</sup> per g.

S8 Kopolimer 4-vinil-piridin dan stirenadivinil benzena.

S9 Polimer berpori dari 2,6-difenil-p-fenilen oksida.

S10 Kopolimer berikatan silang akrilonitril dan divinilbenzena yang bersifat sangat polar.

S11 Karbon grafit dengan luas permukaan nominal 100 m<sup>2</sup> per g, yang dimodifikasi dengan sedikit vaselin dan senyawa polietilen glikol.

S12 Karbon grafit dengan luas permukaan nominal 100 m<sup>2</sup> per g.

### OSMOLALITAS DAN OSMOLARITAS <941>

Tekanan osmotik memegang peran penting dalam semua proses biologi yang melibatkan difusi zat terlarut atau transfer cairan melalui membran. Osmosis terjadi ketika pelarut, bukan molekul zat terlarut melewati membran semipermeabel dari bagian yang konsentrasinya lebih rendah ke bagian yang konsentrasinya lebih tinggi sehingga terjadi kesetimbangan. Pengetahuan mengenai tekanan osmotik penting bagi para praktisi kesehatan untuk menentukan suatu larutan parenteral bersifat hiposmotik, iso-osmotik atau hiper-osmotik. Pengukuran kuantitatif tekanan osmotik akan memudahkan

perhitungan pengenceran yang diperlukan untuk membuat suatu larutan relatif iso-osmotik terhadap darah.

### Tekanan Osmotik

Tekanan Osmotik dari larutan tergantung pada jumlah partikel dalam larutan, sesuai dengan sifat koligatif larutan. Suatu partikel dapat berupa spesi molekul atau ion atau agregat (seperti dimer) yang dapat terpisah dari larutan. Suatu larutan menunjukkan sifat ideal jika tidak ada interaksi antara zat terlarut dan pelarut, kecuali jika molekul pelarut terikat pada zat terlarut oleh ikatan hidrogen atau kovalen koordinat. Untuk larutan seperti ini yang mengandung zat terlarut tidak terdisosiasi, tekanan osmotik ( $\pi$ ) sebanding dengan molalitasnya (jumlah mol zat terlarut per kg pelarut):

$$\pi = (\rho RT/1000) m$$

$\rho$  adalah kerapatan pelarut pada suhu T (dalam skala absolut, °K); R adalah tetapan gas dan m adalah molalitas larutan.

Untuk suatu larutan nyata yang mengandung lebih dari satu zat terlarut, tekanan osmotik dinyatakan dengan rumus:

$$\pi = \left( \frac{\rho RT}{1000} \right) \sum v_i m_i \Phi_{m,i}$$

$v_i$  adalah jumlah partikel hasil disosiasi satu molekul zat terlarut yang ke-i;  $v_i = 1$  untuk zat terlarut non-ionik (tidak terdisosiasi);  $m_i$  adalah molalitas zat terlarut ke-i; dan  $\Phi_{m,i}$  adalah koefisien osmotik molal dari zat terlarut ke-i. Koefisien osmotik molal dihitung terhadap sifat ideal larutan. Nilainya tergantung pada konsentrasi zat terlarut dalam larutan, sifat kimia dan karakteristik ion. Nilai koefisien osmotik molal dari zat terlarut dapat ditentukan secara eksperimen dengan mengukur penurunan titik beku pada konsentrasi molal yang berbeda. Untuk keperluan farmasi, nilai koefisien osmotik adalah kurang dari 1. Koefisien osmotik molal menurun dengan meningkatnya kadar zat terlarut, seperti tertera pada *Tabel 1*.

### Osmolalitas

Osmolalitas larutan ( $\xi_{mi}$ ) dinyatakan dengan rumus:

$$\xi_{mi} = \sum v_i m_i \Phi_{mi}$$

Osmolalitas larutan nyata berkaitan dengan molalitas larutan ideal yang mengandung zat terlarut yang tidak terdisosiasi dan dinyatakan dalam osmol atau miliosmol per kg pelarut (Osmol per kg atau mOsmol per kg). Suatu satuan yang mirip dengan molalitas larutan Osmolalitas merupakan satuan dari molalitas larutan. Jadi, osmolalitas adalah ukuran tekanan osmotik yang disebabkan oleh suatu larutan nyata yang melewati membran semipermeabel. Seperti halnya tekanan osmotik, sifat koligatif lain dari suatu larutan seperti penurunan tekanan

uap, peningkatan titik didih dan penurunan titik beku berkaitan langsung dengan osmolalitas larutan. Osmolalitas suatu larutan dapat ditentukan secara lebih akurat dan mudah dengan mengukur penurunan titik beku ( $\Delta T_b$ ):

$$\Delta T_b = k_b \xi_m$$

$k_b$  adalah tetapan molal krioskopik, yang merupakan sifat dari pelarut. Untuk air, nilai  $k_b$  adalah 1,860° per Osmol. Artinya 1 Osmol zat terlarut yang ditambahkan ke dalam 1 kg air menurunkan titik beku sebesar 1,860°.

### Osmolaritas

Osmolaritas larutan secara teoritis dinyatakan dalam osmol per liter (Osmol per L) larutan dan banyak digunakan secara luas dalam praktek klinis karena osmol dinyatakan dalam osmol sebagai fungsi volume. Osmolaritas tidak dapat diukur, tetapi dihitung secara teoritis dari pengukuran osmolalitas secara eksperimen. Kadang-kadang osmolaritas ( $\xi_c$ ) dihitung secara teoritis dari konsentrasi molar:

$$\xi_c = \sum v_i c_i$$

$v_i$  adalah jumlah partikel hasil disosiasi satu molekul zat terlarut yang ke-i;  $c_i$  adalah konsentrasi molar zat terlarut yang ke-i dalam larutan. Sebagai contoh, osmolaritas larutan yang dibuat dengan melarutkan 1 g vankomisin dalam 100 ml larutan natrium klorida 0,9 % dapat dihitung sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \left[ \left( \frac{3 \times 10 \text{ g/liter}}{1449,25} \right) + \left( \frac{2 \times 9 \text{ g/liter}}{58,44} \right) \right] \times 1000 \\ & = 329 \text{ mOsmol/liter} \end{aligned}$$

1449,25 adalah BM vankomisin dan 58,44 adalah BM natrium klorida.

Hasil menunjukkan bahwa larutan tersebut agak hiperosmotik karena osmolalitas darah berada diantara 285 dan 310 mOsmol per kg. Apabila larutan yang ditentukan secara eksperimen mempunyai nilai osmolalitas sebesar 255 mOsmol per kg, maka larutan tersebut bersifat hiposmotik. Contoh tersebut di atas menggambarkan bahwa nilai osmolaritas yang dihitung secara teoritis dari konsentrasi larutan sebaiknya diinterpretasikan secara hati-hati dan mungkin tidak mewakili sifat osmotik larutan infus.

Ketidaksesuaian antara hasil teoritis (osmolaritas) dan eksperimen (osmolalitas) sebagian disebabkan oleh kenyataan bahwa tekanan osmotik berkaitan dengan osmolalitas dan bukan osmolaritas. Secara lebih signifikan, ketidaksesuaian antara hasil eksperimen dan perhitungan teoritis disebabkan oleh kenyataan bahwa tekanan osmotik suatu larutan nyata lebih kecil daripada tekanan osmotik suatu larutan ideal karena adanya interaksi antar molekul zat terlarut atau antara molekul zat terlarut dengan molekul pelarut dalam larutan.

Interaksi-interaksi tersebut mengurangi tekanan yang didesak oleh molekul zat terlarut pada membran semipermeabel, mengurangi nilai osmolalitas eksperimental dibandingkan nilai teoritis. Perbedaan ini berhubungan dengan koefisien molal osmotik ( $\Phi_{mi}$ ). Contoh tersebut juga menggambarkan pentingnya penentuan osmolalitas suatu larutan secara eksperimen, daripada perhitungan nilai osmolalitas secara teoritis.

### PENGUKURAN OSMOLALITAS

Osmolalitas larutan secara umum ditentukan dengan cara mengukur penurunan titik beku larutan.

Alat Osmometer digunakan untuk pengukuran penurunan titik beku, terdiri dari: wadah pendingin yang digunakan untuk pengukuran; tahanan yang sensitif terhadap perubahan suhu (termistor), alat pengukur perbedaan arus atau potensial yang ditunjukkan dalam perubahan suhu atau osmolalitas; dan alat pengaduk sampel. Osmometer yang digunakan untuk mengukur tekanan uap larutan, jarang digunakan. Alat ini memerlukan volume zat uji yang lebih kecil (umumnya lebih kurang 5  $\mu$ l), tetapi akurasi dan presisi hasil penetapan osmolalitasnya sebanding dengan hasil yang diperoleh apabila menggunakan osmometer yang berdasarkan pengamatan titik beku larutan.

*Larutan baku* Buat larutan baku seperti tertera pada Tabel 1.

*Larutan uji* Untuk padatan pro injeksi, larutkan dengan pelarut yang sesuai dengan instruksi seperti tertera pada etiket. Untuk larutan, gunakan sampel sebagai berikut [Catatan Jika perlu larutan dapat diencerkan hingga masuk dalam rentang pengukuran osmometer tetapi hasil harus dinyatakan dalam larutan yang encer tersebut dan tidak dihitung dengan mengalikan faktor pengenceran untuk mendapatkan osmolalitas larutan awal, kecuali jika dinyatakan lain dalam monografi. Koefisien osmotik molal adalah fungsi dari konsentrasi, oleh karena itu koefisien osmotik molal akan berubah dengan dilakukannya pengenceran.]

Prosedur Diawali dengan kalibrasi alat sesuai dengan petunjuk pabrik. Konfirmasikan hasil kalibrasi alat dengan sekurang-kurangnya dua larutan dari Tabel 1 sehingga osmolalitas *Larutan baku* menjangkau rentang osmolalitas *Larutan uji* yang dapat diterima.

Pembacaan alat sebaiknya dalam  $\pm 2$  mOsmol/kg dari *Larutan baku* (pada rentang baku 100 sampai 700 mOsmol/kg). Masukkan sejumlah volume masing-masing *Larutan baku* ke dalam sel pengukuran sesuai petunjuk pabrik dan jalankan sistem pendinginan. Biasanya alat pencampur diprogram di bawah suhu terendah yang

diharapkan dari penurunan titik beku. Alat akan memberikan hasil ketika kesetimbangan dicapai. Kalibrasi osmometer pembacaan menggunakan alat pengatur yang memadai sehingga sesuai dengan nilai osmolalitas atau penurunan titik beku dari *Larutan baku* yang ditunjukkan pada Tabel 1. [Catatan Beberapa alat yang menunjukkan osmolalitas dan ada yang menunjukkan penurunan titik beku.] Sebelum pengukuran, bilas sel pengukuran sekurang-kurangnya dua kali dengan larutan yang akan diuji. Ulangi prosedur dengan masing-masing *Larutan uji*. Baca osmolalitas *Larutan uji* secara langsung, atau hitung dari pengukuran penurunan titik beku.

Dengan asumsi nilai koefisien osmotik sama, baik dinyatakan dalam molalitas maupun dalam molaritas, osmolalitas suatu larutan yang ditetapkan secara eksperimen dapat dikonversikan ke dalam osmolaritas dengan cara yang sama seperti konversi molalitas ke molaritas. Kecuali dinyatakan lain, jika konsentrasi larutan sangat pekat, osmolaritas suatu larutan ( $\xi_c$ ) dapat dihitung dari hasil penetapan osmolalitas ( $\xi_m$ ) secara eksperimen:

$$\xi_c = \frac{1000\xi_m}{(100/\rho) + \sum w_i v_i}$$

$w_i$  adalah bobot dalam g;  $v_i$  adalah volume spesifik parsial dari zat terlarut yang ke-i, dalam ml per g. Volume spesifik parsial suatu zat terlarut adalah perubahan volume apabila ada penambahan 1 g zat terlarut dalam larutan tersebut. Volume ini dapat ditetapkan dengan pengukuran kerapatan larutan sebelum dan sesudah penambahan zat terlarut. Volume spesifik parsial garam pada umumnya sangat kecil, sekitar 0,1 ml per g. Tetapi untuk zat terlarut lain pada umumnya mempunyai volume spesifik parsial yang lebih tinggi. Contohnya: volume spesifik parsial asam amino berada dalam rentang 0,6 – 0,9 ml per g. Ini dapat ditunjukkan dari persamaan di atas yang menghubungkan osmolaritas dengan osmolalitas.

$$\xi_c = \xi_m (\rho - c)$$

$\rho$  adalah kerapatan larutan dan  $c$  adalah konsentrasi zat terlarut total, keduanya dinyatakan dalam g per ml. Jadi, sebagai alternatif, osmolaritas dapat juga dihitung dari penetapan osmolalitas secara eksperimen, dari metode yang sesuai untuk menetapkan kerapatan larutan dan bobot total zat terlarut per ml larutan setelah dikoreksi terhadap kadar air

**Tabel 1. Larutan Baku untuk Kalibrasi Osmometer**

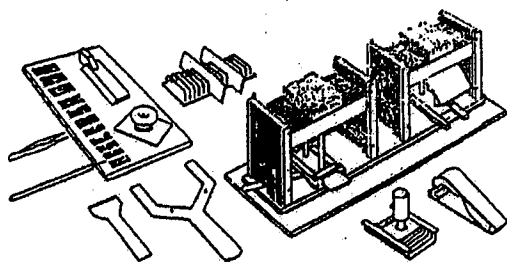
Larutan baku (bobot dalam g NaCl per kg air)	Osmolalitas (mOsmol/kg) ( $\xi_m$ )	Koefisien osmotik molal NaCl ( $\Phi_m \text{ NaCl}$ )	Penurunan titik beku ( $^{\circ}\text{K}$ ). ( $\Delta T_b$ )
3,087	100	0,9463	0,186
6,260	200	0,9337	0,372
9,463	300	0,9264	0,558
12,684	400	0,9215	0,744
15,916	500	0,9180	0,930
19,147	600	0,9157	1,116
22,380	700	0,9140	1,302

**PANJANG SERAT <951>**

Penetapan panjang dan penyebaran panjang serat kapas dalam kapas murni, gunakan metode sebagai berikut :

Kondisikan bahan yang akan ditetapkan panjang serat dari kapas murni pada suhu  $21^{\circ}\pm 1,1^{\circ}$  dengan kelembaban relative  $65\%\pm 2\%$ .

Alat Alat pemilah (lihat gambar) terdiri dari 2 lekukan sisir yang dipasang secara kaku bersebelahan pada sisi alas yang sama. Tiap lekukan sisir terdiri tidak kurang dari 12 sisir berjarak 3,2 mm, berurutan dan dipasang dalam alur sehingga pada saat sisir-sisir didekatkan pada waktu proses pemilahan dan tidak dibutuhkan lagi, sisir-sisir tersebut dapat diturunkan dibawah alat kerja. Tiap sisir mempunyai satu jajaran yang benar-benar lurus dan gigi yang sangat tajam dengan panjang 12 mm, terdiri dari jarum-jarum dengan diameter 0,38 mm. Gigi berjarak 62 mm hingga 25 mm sepanjang lebih kurang 50 mm.



Gambar Alat Pemilah Serat Katun

Bagian dari alat terdiri atas alat berbentuk pinset untuk memilah, kisi penekan serat, lempeng licin penekan serat dan beludru penutup lempeng. Pinset pemilah serat terdiri dari 2 keping kuningan dengan panjang lebih kurang 75 mm, digantung pada pada satu ujung dan garis tipis pada ujung penjepit untuk menjepit serat yang menonjol pada permukaan sisir. Biasanya salah satu ujung penjepit mempunyai kulit atau lapisan benang lainnya. Lebar ujung penjepit lebih kurang 19 mm.

Kisi penekan serat terdiri dari satu seri tangkai kuningan berjarak 3,2 mm ditempatkan diantara sisir pada penekan serat berada diantara gigi. Lempeng licin penekan serat terdiri dari lempeng kuningan yang telah

digosok berukuran lebih kurang 25 mm x 50 mm dengan tombol atau gagang pada permukaan atas lempeng yang licin, letakkan serat diatas permukaan beludru dari susunan lempeng. Lempeng ditutupi beludru yang diatasnya diletakkan serat dalam bentuk susunan lempeng merupakan lembaran aluminium berukuran lebih kurang 100 mm x 225 mm x 2,4 mm, tertutup pada 2 sisi dengan beludru berkualitas tinggi, sebaiknya berwarna hitam.

**Pemilahan kapas** buka gulungan kapas, lakukan pengujian menggunakan 250 g hingga 500 g, 32 jumputan (lebih kurang 75 mg tiap jumputan), dari 250 gg tiap jumputan). Ambil bagian yang baik dari gulungan, 16 jumputan yang mewakili dari setengah gulungan arah membujur. Jangan memotong ujung gulungan dan ambil secara khusus bagian yang tertutup sepanjang tebal gulungan. Hindari serat yang panjang atau pendeknya tidak sama, ganti semua serat dan jaga agar tidak meleset dari jari. Dari contoh dengan bobot kurang dari 125 g, ambil 8 jumputan dan dari contoh dengan bobot lebih dari 125 g dan kurang 250 g, ambil 16 jumputan, pilih yang baik.

Campur semua bahan yang diambil dan gabungkan hati-hati tiap pasang dengan menarik dan menggulung pada jari. Kemudian bagi tiap pasang dengan pembelahan membujur dibagi menjadi 2 bagian yang sama dan gunakan 1 bagian dalam pencampuran lebih lanjut. (Bagian lain dibuang atau disimpan untuk pengujian selanjutnya).

Ulangi proses yang tertera diatas dengan setengah bagian dari seri yang sudah dibagi dua sampai dihasilkan 1 jumputan, yaitu bagian uji gabungan akhir. Dengan hati-hati, sejajar dan luruskan serat pada uji bagian gabungan akhir dengan menarik dan melilitkan pada tangan. Simpan semua serat, termasuk juga serat yang kusut dan gumpalan serat kusut, buang serat-serat dengan fragmen biji yang masih hijau dan bahan asing seperti tangkai, daun dan fragmen biji.

Dari bagian gabungan akhir seperti tertera diatas, pisahkan secara membujur untuk bahan uji, timbang saksama  $75 \text{ mg} \pm 2 \text{ mg}$ . Bila perlu simpan sisa untuk pengujian selanjutnya.

**Prosedur** Gunakan kisi penekan serat, masukkan hati-hati bahan uji yang telah ditimbang kedalam satu lekukan sisir dengan lebih kurang sudut tegak lurus.

Dengan pinst pemilah, ambil sebagian kecil ujung bebas serat, masukkan pada gigi sisir yang paling dekat dengan operator; hati-hati dan perlahan tarik sisir kedepan, pindahkan pada gigi lekukan sisir kedua, letakkan sejajar, lurus dan lebih kurang pada sudut siku-siku terhadap permukaan sisir, lepaskan ujung kisi dekat permukaan bagian depan sisir. Dengan kisi penekan, tekan hati-hati serat yang dipindahkan ke bawah gigi sisir. Ulangi hingga semua serat masuk kedalam lekukan sisir yang kedua. Selama pemindahan serat, keluarkan lekukan sisir pertama berturut-turut dan hilangkan semua serat yang menonjol.

Putar mesin 180° dan masukkan serat kapas kembali pada lekukan pertama sisir dengan cara yang sama seperti tertera diatas.

Hati-hati dalam meratakan ujung serat selama kedua pemindahan diatas, susun dengan teliti ke permukaan depan sisir terdekat. Perataan ujung serat dapat meliputi penarikan, penguraian serat dari depan ke belakang sisir, mengembalikannya kedalam dan keatas gumpalan utama sisir.

Putar lagi mesin 180°, bila perlu keluarkan sisir secukupnya untuk membuka ujung serat yang paling panjang dan kembalikan beberapa serat yang terurai. Tarik sebagian kecil serat yang menonjol dengan pinset. Dengan cara ini lanjutkan penarikan sisa serat yang menonjol kembali ke bagian depan permukaan sisir. Turunkan sisir dan ulangi pengujian dengan cara yang sama sampai semua serat tertarik keluar. Agar tidak mengganggu bagian yang diuji, dan dengan demikian tidak merusak panjang menjadi panjang kelompok, buat beberapa tarikan (sebanyak 8 hingga 10) antara setiap pasangan sisir.

Letakkan tarikan pada lempeng yang dilapisi beludru sepanjang sisi yang satu dengan lain selurus mungkin dengan ujung yang jelas dan jarak terakhir tersusun dalam garis lurus, tekan kebawah hati-hati dan halus menggunakan lempeng licin penekan serat sebelum melepaskan tarikan dari jepitan. Gunakan tidak kurang dari 50 dan tidak lebih dari 100 tarikan untuk memecah bagian yang diuji.

Kelompokkan semua serat berukuran panjang 12,5 mm (lebih kurang 0,5 inci) atau lebih, dan timbang lebih kurang 0,3 mg. Dengan cara yang sama, kumpulkan semua serat dengan panjang 6,25 mm (lebih kurang 0,25 inci) atau kurang dan timbang. Terakhir, kumpulkan sisa serat dari panjang rata-rata dan timbang. Jumlah dari tiga penimbangan tidak berbeda lebih dari 3 mg dari bobot awal. Persentase bobot serat dalam kedua rentang panjang adalah bobot tiap 2 kelompok pertama dibagi dengan bobot zat uji yang ditimbang.

## PELEPASAN OBAT <961>

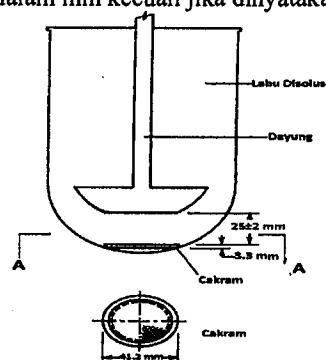
Pengujian ini bertujuan untuk menentukan kesesuaian pelepasan obat dengan persyaratan yang tercantum pada masing-masing monografi. Gunakan alat yang tercantum pada monografi. Ganti alikot yang diambil untuk analisis dengan sejumlah volume sama media disolusi yang baru pada suhu yang dinyatakan dalam monografi atau jika

dapat ditunjukkan bahwa penggantian media tidak diperlukan, lakukan koreksi terhadap perubahan volume dalam perhitungan. Jaga wadah agar selalu tertutup selama penetapan dan periksa suhu campuran uji pada waktu tertentu.

## RUTE TRANSDERMAL – PELEPASAN OBAT SECARA UMUM

### Alat 5 ( Dayung di atas Cakram )

Gunakan dayung dan labu dari Alat 2 seperti tertera pada *Uji Disolusi* <1231> dengan penambahan suatu cakram baja tahan karat yang dirancang untuk menahan sediaan transdermal pada dasar labu. Alat-alat yang sesuai lainnya dapat digunakan asalkan tidak menyerap, tidak bereaksi dengan zat aktif atau tidak mengganggu cuplikan yang diuji. Suhu dipertahankan pada  $32^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ . Jarak  $25\pm 2$  mm antara bilah dayung dengan permukaan cakram dipertahankan selama penetapan. Labu dapat ditutup selama penetapan untuk mengurangi penguapan. Cakram untuk menahan sediaan transdermal dirancang agar volume tak terukur antara dasar labu dengan cakram minimal. Cakram menahan sediaan secara datar ditempatkan sedemikian rupa sehingga permukaan pelepasan sejajar dengan bilah dayung (Lihat Gambar 1). Gambar 1. Dayung di atas cakram (Semua pengukuran dinyatakan dalam mm kecuali jika dinyatakan lain).



Gambar 1 Dayung di atas Cakram

Verifikasi kinerja dan Media Disolusi Lakukan seperti tertera pada *Alat 2* dalam *Uji Disolusi* <1231>.

### Prosedur

Masukkan sejumlah volume media disolusi ke dalam labu, pasang alat tanpa cakram dan biarkan media hingga mencapai suhu  $32^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ . Lekatkan sediaan uji pada cakram, pastikan agar permukaan pelepasan sediaan merata mungkin. Sediaan dapat dilekatkan pada cakram dengan menggunakan perekat yang sesuai pada cakram. Keringkan selama 1 menit. Tekan sediaan, permukaan pelepasan menghadap ke atas pada sisi cakram yang dilapisi perekat. Jika digunakan suatu membran sebagai penyangga sediaan, tidak boleh terdapat gelembung antara membran dan permukaan pelepasan. Letakkan cakram secara mendatar pada dasar labu dengan permukaan pelepasan menghadap ke atas dan sejajar dengan ujung bilah dayung dan permukaan media



### Alat 6 ( Silinder )

disolusi. Ujung dayung bagian bawah berjarak  $25 \pm 2$  mm dari permukaan cakram. Segera jalankan alat pada kecepatan seperti tertera pada masing-masing monografi. Pada setiap interval waktu pengambilan cuplikan, ambil cuplikan dari bagian tengah antara permukaan media disolusi dan bagian atas bilah dayung, tidak kurang 1 cm dari dinding labu. Lakukan penetapan kadar tiap cuplikan seperti tertera pada masing-masing monografi, jika perlu lakukan koreksi terhadap setiap kehilangan volume. Ulangi pengujian dengan sediaan transdermal lainnya.

**Waktu** Waktu pengambilan cuplikan umumnya tiga titik, dinyatakan dalam satuan jam. Cuplikan harus diambil dalam batas toleransi  $\pm 15$  menit atau  $\pm 2$  % dari waktu yang tertera pada masing-masing monografi. Pilih toleransi yang menghasilkan interval waktu paling sempit.

**Interpretasi** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dipenuhi jika jumlah bahan aktif yang dilepas dari sediaan dan larut dalam media disolusi memenuhi kriteria Tabel Penerimaan 1 untuk rute transdermal. Lakukan penetapan hingga tahap 3 kecuali hasil pada tahap sebelumnya telah memenuhi syarat L<sub>1</sub> atau L<sub>2</sub>.

**Tabel Penerimaan 1**

Level	Jumlah uji	Kriteria
L1	6	Tidak ada satu nilaiupun yang terletak di luar rentang penerimaan yang dinyatakan.
L2	6	Nilai rata-rata dari 12 unit sediaan (L1 + L2) terletak dalam rentang penerimaan yang dinyatakan. Tidak satu nilaiupun yang terletak di luar rentang penerimaan lebih dari 10 % dari rata-rata rentang penerimaan yang dinyatakan.
L3	12	Nilai rata-rata dari 24 unit sediaan (L1 + L2 + L3) terletak dalam rentang penerimaan yang dinyatakan. Tidak lebih dari 2 dari 24 unit sediaan yang diuji terletak di luar rentang penerimaan yang dinyatakan lebih dari 10 % dari rata-rata penerimaan yang dinyatakan; tidak ada satu unitpun sediaan yang terletak di luar rentang penerimaan yang dinyatakan lebih dari 20 % dari rata-rata rentang penerimaan yang dinyatakan.

Gunakan labu dari Alat 1 seperti tertera pada *Uji Disolusi* <1231>, kecuali keranjang dan tangkai pemutar diganti dengan elemen pemutar silinder yang terbuat dari baja tahan karat, dan suhu dipertahankan pada  $32 \pm 0,5^\circ$  selama penetapan berlangsung. Komponen tangkai dan silinder dari elemen pemutar terbuat dari baja tahan karat dengan spesifikasi seperti tertera pada *Gambar 7*. Sediaan uji ditempatkan pada silinder pada permulaan tiap penetapan. Jarak antara bagian dalam labu dan silinder dipertahankan pada  $25 \pm 2$  mm selama penetapan.

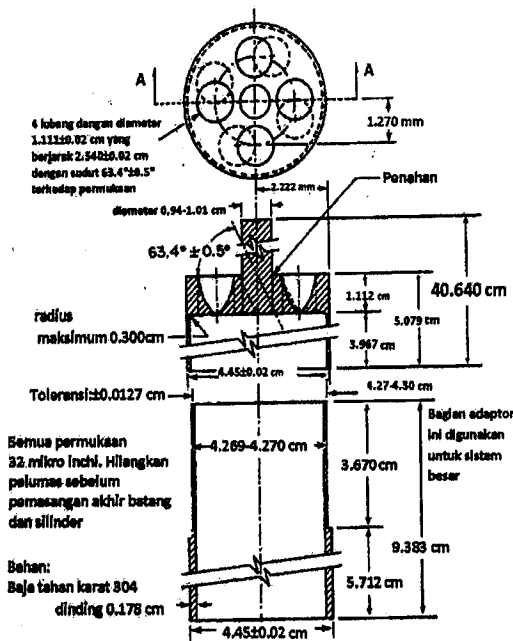
**Media Disolusi** Gunakan media seperti tertera pada *Uji Disolusi* <1231>.

#### Prosedur

Masukkan sejumlah volume media disolusi ke dalam labu dari alat yang ditentukan dalam tiap monografi, pasang alat dan panaskan *Media disolusi* hingga mencapai suhu  $32 \pm 0,5^\circ$ . Kecuali dinyatakan lain dalam monografi, siapkan sistem uji sebagai berikut. Ambil garis pelindung dari sistem dan tempatkan sisi perekat pada sepotong Curophan yang lebih besar, tidak kurang 1 cm pada semua sisi sistem. [Catatan Gunakan Curophan tipe 150 pm, tebal  $11 \pm 0,5 \mu\text{m}$ , inert, bahan selulosa berpori yang tersedia dari Medicell International Ltd 230 Liverpool Road, London.] Tempatkan sistem dan Curophan (menutup sisi bawah) pada permukaan yang bersih dan gunakan bahan perekat yang sesuai pada batas Curophan yang terpapar. Keringkan selama 1 menit. Gunakan sisi sistem yang terlapisi perekat secara hati-hati pada bagian luar silinder sehingga sumbu axis yang panjang tetap di sekeliling silinder. Tekan lapisan/Curophan untuk menghilangkan gelembung udara yang terperangkap. Tempatkan silinder dalam alat dan dengan segera putar pada kecepatan seperti tertera pada masing-masing monografi. Dalam interval waktu yang dinyatakan, ambil sejumlah *Media disolusi* untuk analisis dari daerah tengah antara permukaan media disolusi dan ujung silinder yang berputar, tidak kurang 1 cm dari dinding labu. Lakukan analisis seperti tertera pada masing-masing monografi, jika perlu lakukan koreksi kehilangan volume. Jika perlu ulangi pengujian menggunakan sediaan tambahan.

**Waktu** Lakukan seperti tertera pada *Alat 5*.

**Interpretasi** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dipenuhi jika jumlah bahan aktif yang dilepas dari sediaan dan larut dalam media disolusi memenuhi kriteria Tabel Penerimaan 1 untuk rute transdermal. Lakukan penetapan hingga tahap 3 kecuali hasil pada tahap sebelumnya telah memenuhi syarat L<sub>1</sub> atau L<sub>2</sub>.



Gambar 2 Elemen Silinder Stirrer Magnetik

#### Alat 7 (Penyangga Bolak-balik)

Catatan Alat ini terutama digunakan untuk sediaan transdermal, tetapi dapat juga digunakan untuk berbagai bentuk sediaan lain.

Alat Terdiri dari 1 set wadah larutan yang terkalibrasi secara volumetri atau tertara, terbuat dari kaca atau bahan inert<sup>1</sup> lain yang sesuai, motor dan kemudi yang dipasang untuk menggerakkan sistem turun naik secara vertikal dan mengarahkan sistem secara horizontal secara otomatis ke deret labu yang berbeda jika diinginkan, dan satu set penyangga cuplikan yang sesuai (Lihat Gambar 8 dan Gambar 9a – 9d). Wadah larutan sebagian dicelupkan dalam tangas air dengan ukuran yang sesuai sehingga memungkinkan terpeliharanya suhu, T, di dalam wadah pada  $32 \pm 0,5^\circ$  atau dalam rentang yang diinginkan, seperti dinyatakan dalam tiap monografi, selama uji. Tidak ada satupun bagian alat termasuk lingkungan di mana alat dipasang yang berkontribusi pada pergerakan, agitasi atau getaran yang bermakna yang mempengaruhi kehalusan, gerakan turun naik penyangga cuplikan secara vertikal. Alat yang memungkinkan pengamatan sistem dan penyangga selama uji lebih disukai. Gunakan ukuran wadah dan tempat sampel sebagaimana ditentukan pada masing-masing monografi.

**Media Disolusi** Gunakan seperti tertera pada monografi, lihat *Uji Disolusi* <1231>.

**Penyiapan Sampel A ( Sediaan Tablet Bersalut )**  
Pasang tiap sistem yang harus diuji ke pegangan sampel yang sesuai (misalnya dengan merekatkan ujung sistem dengan perekat 2-siano akrilat ke ujung tali plastik atau dengan menempatkan sediaan ke dalam tas/kantong jaring nilon kecil pada ujung tali plastik atau dalam gulungan logam yang dipasangkan pada tali logam).

**Penyiapan Sampel B ( Sediaan Rute Transdermal )**  
Tekan sistem ke dalam selebar Curophan kering yang belum pernah digunakan, jaring nilon atau yang setara dengan sisi perekat menghadap substrat terpilih dengan berhati-hati untuk mengurangi gelembung udara antara permukaan substrat dengan permukaan pelepasan. Pasang sistem pada penyangga sampel yang ukurannya sesuai dengan cincin-O yang sesuai sehingga bagian belakang sistem berdekatan/berbatasan dan di tengah-tengah dasar penyangga sampel berbentuk cakram atau berpusat mengelilingi lingkaran luar penyangga sampel berbentuk silinder. Buang kelebihan substrat dengan pisau yang tajam.

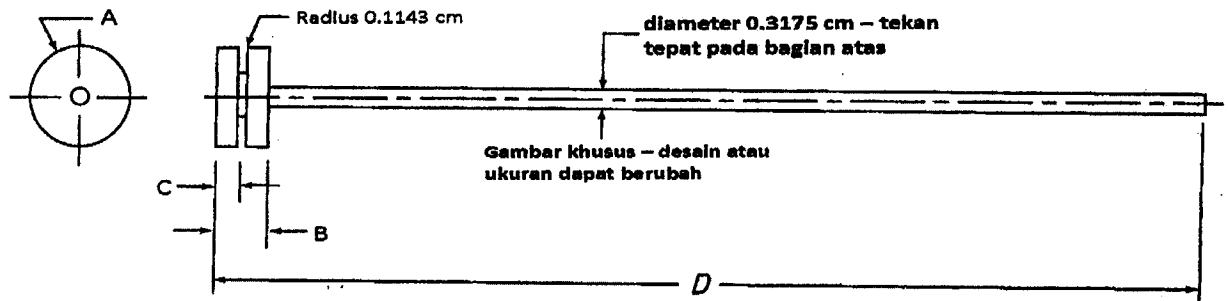
**Penyiapan sampel C (Sediaan lain selain jenis sampel A dan B)** Tempatkan sediaan uji pada penyangga yang sesuai seperti tertera pada monografi.

**Prosedur** Lekatkan penyangga sampel pada pengaduk yang bergerak turun naik sehingga tiap sistem terendam secara terus menerus dalam sejumlah volume *Media disolusi* yang terukur saksama dalam suatu wadah terkalibrasi yang sebelumnya telah dipanaskan hingga mencapai suhu T (lihat pengaturan pada subjudul ALAT).

Turun naikkan pada kecepatan lebih kurang 30 kali per menit dengan amplitudo lebih kurang 2 cm, atau seperti tertera pada masing-masing monografi, untuk waktu tertentu dalam media yang ditentukan pada tiap titik pengambilan cuplikan. Angkat wadah larutan dari tangas, dinginkan pada suhu ruang dan tambahkan larutan secukupnya (biasanya air) untuk mengoreksi kehilangan volume karena penguapan. Lakukan penetapan kadar seperti tertera pada masing-masing monografi. Jika perlu ulangi pengujian menggunakan sediaan tambahan.

**Interpretasi** Kecuali dinyatakan lain dalam monografi, uji memenuhi syarat jika jumlah bahan aktif yang dilepaskan dari sistem dan larut dalam *Media disolusi* memenuhi kriteria *Tabel Penerimaan 3* untuk tablet bersalut pada *Uji Disolusi* <1231>; *Tabel Penerimaan 6* untuk sediaan transdermal. Lakukan penetapan hingga tahap 3 kecuali hasil pada tahap sebelumnya telah memenuhi syarat L<sub>1</sub> atau L<sub>2</sub>.

<sup>1</sup> Bahan tidak boleh mengabsorpsi, bereaksi dengan atau mengganggu cuplikan yang diuji



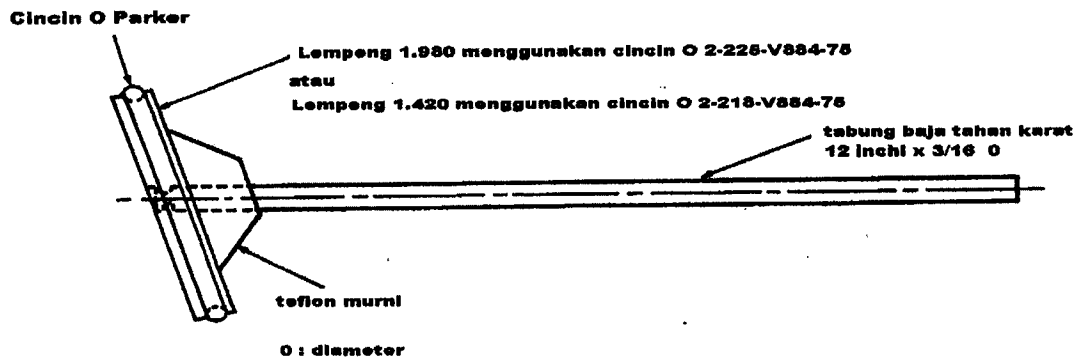
Gambar 3 Penyangga Cuplikan Cakram Turun-Naik

Sistem <sup>a</sup>	Kepala			Tangkai		Cincin O	
	A (diameter) (cm)	B (cm)	C (cm)	Bahan <sup>b</sup>	D (cm)	Bahan <sup>c</sup>	Tidak terlihat
1,6 cm <sup>2</sup>	1,428	0,9525	0,4750	SS/VT	30,48	SS/P	Parker 2-311-V884-75
2,5 cm <sup>2</sup>	1,778	0,9525	0,4750	SS/VT	30,48	SS/P	Parker 2-016-V884-75
5 cm <sup>2</sup>	2,6924	0,7620	0,3810	SS/VT	8,890	SS/P	Parker 2-022-V884-75
7 cm <sup>2</sup>	3,1750	0,7620	0,3810	SS/VT	30,48	SS/P	Parker 2-124-V884-75
10 cm <sup>2</sup>	5,0292	0,6350	0,3505	SS/VT	31,01	SS/P	Parker 2-225-V884-75

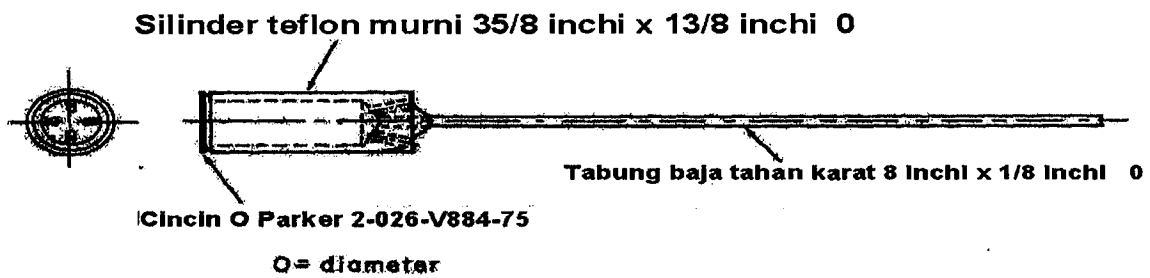
<sup>a</sup>ukuran sistem khas

<sup>b</sup>SS/VT: dapat baja tahan karat atau teflon murni

<sup>c</sup>SS/P: dapat baja tahan karat atau kaca pleksi



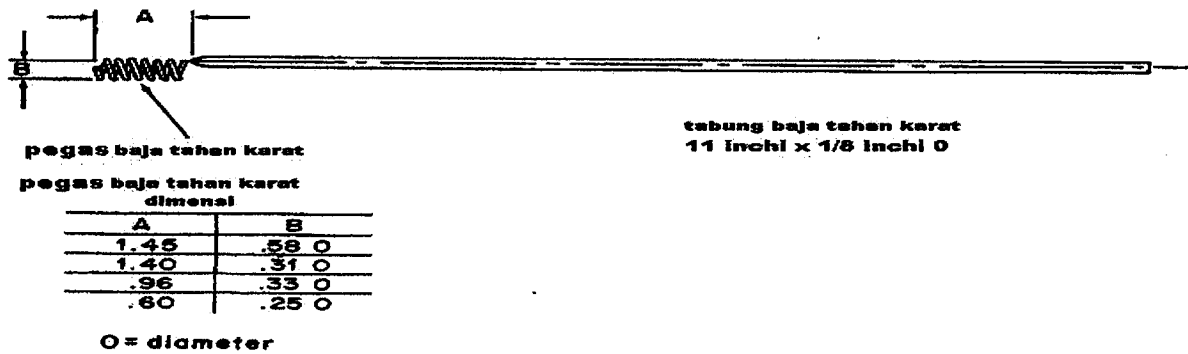
Gambar 4a Sistem Penyangga Transdermal - Lempeng Bersudut



Gambar 4b Sistem Penyangga Transdermal - Silinder



Gambar 4c Sistem Penyangga Tablet Lepas Lambat - Batang dengan Ujung untuk Melekatkan



Gambar 4d Sistem Penyangga Transdermal-Penyangga

## PENETAPAN BATAS FLOKULASI VAKSIN DAN TOKSIN DIFTERI <971>

Batas flokulasi (Lf) toksin difteri ditetapkan dengan melakukan inkubasi sediaan uji bersama dengan sediaan baku antitoksin difteri untuk uji flokulasi dengan kadar yang sesuai. Bila kadar toksin atau vaksin tetap dan kadar antitoksin bervariasi dalam campuran dengan volume tetap, maka campuran yang menunjukkan terjadinya flokulasi pertama adalah campuran yang mengandung jumlah toksin atau vaksin yang mendekati setara dengan antitoksin.

**Baku pembanding** Antitoksin Difteria untuk Flokulasi BPF1.

**Penetapan potensi** Lakukan uji pendahuluan terlebih dahulu untuk menetapkan rentang kadar yang digunakan, tambahkan volume tetap Larutan uji (misalnya 1 ml) ke dalam masing-masing dari 1 seri tabung kecil yang berisi volume sama Larutan baku dengan kadar meningkat. Di dalam tabung, yang berurutan kadar antitoksin meningkat tidak lebih 10% dari kadar tengah pada rentang kadar. Rentang kadar dipilih sedemikian rupa sehingga flokulasi optimum campuran terletak di tengah rentang kadar. Bila waktu yang diperlukan untuk flokulasi antitoksin 1 Lf setara dengan 1 Lf toksin terlalu lama, sebaiknya lakukan uji pada tingkat 50 Lf. Panaskan semua tabung di dalam tangas air pada suhu 45° sampai 50°, hingga setengah tabung terendam hingga diperoleh arus konveksi dan amati terus-menerus hingga campuran yang menunjukkan flokulasi tercepat dapat ditentukan. Harga Lf dalam sediaan uji setara dengan Lf antitoksin dalam campuran. Kesalahan penetapan tunggal diperkirakan kurang dari lebih kurang 5%.

## PENETAPAN BOBOT JENIS <981>

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, penetapan bobot jenis digunakan hanya untuk cairan, dan kecuali dinyatakan lain, didasarkan pada perbandingan bobot zat di udara pada suhu 25° terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Bila suhu ditetapkan dalam monografi, bobot jenis adalah perbandingan bobot zat di udara pada suhu yang telah ditetapkan terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Bila pada suhu 25° zat berbentuk padat, tetapkan bobot jenis pada suhu yang telah tertera pada masing-masing monografi, dan mengacu pada air pada suhu 25°.

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, densitas didefinisikan sebagai masa dari satu unit volume zat pada suhu 25° dalam kilogram per meter kubik atau gram per sentimeter kubik (kg/m<sup>3</sup> atau g/cm<sup>3</sup>).

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan Metode I.

## Metode I

**Prosedur** Gunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan, dinginkan hingga suhu 25°. Atur suhu zat uji hingga lebih kurang 20°, masukkan cairan ke dalam piknometer. Atur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25°, buang kelebihan zat uji dan timbang. Jika pada monografi tertera suhu yang berbeda dari 25°, piknometer yang telah diisi harus diatur hingga mencapai suhu yang diinginkan sebelum ditimbang. Kurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi.

Bobot jenis suatu zat adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot zat dengan bobot air, dalam piknometer. Kecuali dinyatakan lain dalam monografi, keduanya ditetapkan pada suhu 25°.

## Metode II

Prosedur berikut meliputi penggunaan "Oscillating transducer density meter". Alat terdiri atas:

- tabung berbentuk U, umumnya berupa gelas borosilikat, berisi cairan uji
- sistem eksitasi elektrik magneto atau elektrik piezo yang menyebabkan tabung berosilasi sebagai osilator cantilever pada frekuensi tertentu tergantung densitas cairan zat uji
- alat untuk mengukur periode osilasi (T), yang akan dikonversi oleh alat untuk memberi pembacaan langsung densitas atau menghitung densitas dengan menggunakan konstanta A dan B seperti diuraikan di bawah ini; dan
- alat untuk mengukur dan atau mengontrol suhu oscillating transducer yang berisi zat uji.

Periode osilasi merupakan fungsi dari konstanta (c) dan sistem masa; ρ adalah densitas zat uji; M adalah massa tabung dan V volume tabung yang terisi.

$$T^2 = \left( \frac{M}{c} + \frac{\rho \times V}{c} \right) \times 4\pi^2$$

$$\text{Konstanta } A = \left( \frac{c}{4\pi^2 \times V} \right) \text{ dan } B = \left( \frac{M}{V} \right),$$

persamaan untuk oscillating transducer:

$$\rho = A \times T^2 - B$$

Bobot jenis spesifik zat uji menggunakan persamaan:

$$\frac{\rho(L)}{\rho(W)}$$

$\rho_{(L)}$  dan  $\rho_{(W)}$  berturut-turut adalah densitas zat uji dan air pada suhu 25°, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

**Kalibrasi** Konstanta A dan B diperoleh dengan cara mengoperasikan alat dengan tabung U yang diisi oleh dua sampel berbeda yang diketahui densitasnya (misal air yang sudah diawaudarakan dan udara). Lakukan kontrol pengukuran setiap hari, menggunakan air yang diawaudarakan; hasil pengukuran kontrol menggunakan air yang diawaudarakan menunjukkan bahwa densitas tidak berbeda dari nilai pembanding ( $\rho_{25} = 0,997043 \text{ g/cm}^3$ ). Presisi merupakan fungsi keterulangan dan stabilitas frekuensi osilator. *Density meter* dapat melakukan pengukuran dengan nilai kesalahan  $1 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$  sampai  $1 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$  dan keterulangan  $1 \times 10^{-4} \text{ g/cm}^3$  sampai  $1 \times 10^{-6} \text{ g/cm}^3$ . Contoh, alat dengan spesifikasi  $1 \times 10^{-4} \text{ g/cm}^3$  harus menunjukkan  $0,9970 \pm 0,0001 \text{ g/cm}^3$  agar dapat digunakan untuk mengukur, kecuali diperlukan penyesuaian kembali. Kalibrasi hendaknya dilakukan secara teratur dengan menggunakan bahan yang sudah disertifikasi.

**Prosedur** Menggunakan instruksi dari pabrik, lakukan pengukuran menggunakan prosedur seperti pada *Kalibrasi*. Jika perlu lakukan kesetimbangan cairan uji pada 25° sebelum dimasukkan untuk menghindari pembentukan gelembung dan mengurangi waktu pengukuran. Faktor yang mempengaruhi akurasi pengukuran adalah :

- keseragaman suhu pada tabung
- rentang densitas nonlinier
- efek "parasitic resonants"
- kekentalan, jika "oscillating transducer density meter" yang digunakan tidak memiliki pengkompensasi otomatis terhadap pengaruh viskositas sampel.

#### PENETAPAN BOBOT PER MILILITER <991>

Bobot per mililiter suatu cairan adalah bobot dalam g per ml cairan yang ditimbang di udara pada suhu 20°, kecuali dinyatakan lain dalam monografi.

Bobot per ml zat cair ditetapkan dengan membagi bobot zat cair di udara yang dinyatakan dalam g, dari sejumlah cairan yang mengisi piknometer pada suhu yang telah ditetapkan dengan kapasitas piknometer yang dinyatakan dalam ml, pada suhu yang sama. Kapasitas piknometer ditetapkan dari bobot di udara dari sejumlah air yang dinyatakan dalam g, yang mengisi piknometer pada suhu tersebut. Bobot 1 liter air pada suhu yang telah ditetapkan bila ditimbang terhadap bobot kuningin di udara dengan kerapatan 0,0012 g per ml seperti tertera dalam tabel berikut. Penyimpangan kerapatan udara dari harga tersebut di atas, yang diambil sebagai harga rata-rata, tidak mempengaruhi hasil penetapan yang dinyatakan dalam FI.

Suhu (°)	Bobot per liter air (g)
20	997,18
25	996,02
30	994,62

#### PENETAPAN INDEKS BIAS <1001>

Indeks bias suatu zat ( $n$ ) adalah perbandingan kecepatan cahaya dalam udara dengan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Indeks bias berguna untuk identifikasi zat dan deteksi ketakmurnian.

Walaupun menurut Farmakope suhu pengukuran adalah 25°, tetapi pada banyak monografi indeks bias ditetapkan pada suhu 20°. Suhu pengukuran harus benar-benar diatur dan dipertahankan, karena sangat mempengaruhi indeks bias.

Harga indeks bias dalam Farmakope ini dinyatakan untuk garis D cahaya natrium pada panjang gelombang dublet 589,0 nm dan 589,6 nm. Umumnya alat dirancang untuk digunakan dengan cahaya putih, tetapi dikalibrasi agar memberikan indeks bias untuk garis D cahaya natrium.

Refraktometer Abbe' digunakan untuk mengukur rentang indeks bias dari bahan-bahan yang tercantum dalam Farmakope Indonesia, berikut harga indeks biasnya. Refraktometer lain dengan ketelitian yang setara atau lebih dapat digunakan.

Untuk mencapai ketelitian teoritis  $\pm 0,0001$ , perlu dilakukan kalibrasi alat terhadap baku yang disediakan oleh pabriknya dan lakukan pengecekan seringkali terhadap pengendali suhu dan kebersihan alat dengan menetapkan indeks bias air destilasi adalah 1,3330 pada suhu 20° dan 1,3325 pada suhu 25°.

#### PENETAPAN JARAK DESTILASI <1011>

Untuk penetapan jarak suhu suatu cairan terdestilasi, atau presentase dari bahan yang terdestilasi antara dua suhu tertentu, gunakan *Metode I* atau *Metode II* seperti tertera pada masing-masing monografi. *Batas terendah* dari jarak suhu, adalah suhu yang ditunjukkan oleh termometer pada saat tetesan pertama kondensat meninggalkan ujung kondensor, dan *batas tertinggi* adalah titik kering, yaitu suhu pada saat tetesan terakhir cairan menguap dari titik terendah dalam labu destilasi, tanpa memperhatikan adanya cairan yang tersisa pada dinding labu, atau pada suhu yang teramati saat bagian tertentu yang tertera dalam masing-masing monografi telah terkumpul.

[Catatan Dinginkan semua cairan yang terdestilasi di bawah suhu 80° sampai suhu antara 10° dan 15°, sebelum cuplikan diukur untuk destilasi.]

### Metode I

**Alat** Gunakan alat yang sama seperti ditetapkan pada *Metode II*, kecuali labu destilasi berkapasitas 50 - 60 ml, panjang leher labu 10 - 12 cm dan diameter dalam 14 - 16 mm. Jika digunakan papan asbes yang bagian atasnya berlubang sedemikian rupa hingga, apabila labu diletakkan, bagian labu di bawah permukaan atas asbes mempunyai kapasitas 3 - 4 ml.

**Prosedur** Lakukan seperti tertera pada *Metode II*, menggunakan 25 ml cairan yang akan diuji.

### Metode II

**Alat** Gunakan alat yang terdiri dari bagian-bagian berikut:

**Labu destilasi** Labu destilasi alas bundar, terbuat dari kaca tahan panas dengan kapasitas 200 ml dan mempunyai panjang keseluruhan 17 - 19 cm serta diameter dalam leher labu 20 - 22 mm. Lebih kurang pertengahan leher kira-kira 12 cm dari dasar labu ada lengan samping dengan panjang 10 - 12 cm dan diameter dalam 5 mm, yang membentuk sudut 70° - 75° dengan bagian bawah leher.

**Pendingin** Pendingin kaca yang lurus, panjang 55 - 60 cm dilengkapi jaket air, dengan panjang lebih kurang 40 cm, atau pendingin bentuk lain yang mempunyai kapasitas pendinginan yang setara. Ujung bawah pendingin dapat dibengkokkan sebagai pipa pengalir, atau dapat dihubungkan dengan adaptor bengkok yang bertindak sebagai pipa pengalir.

**Papan asbes** Dua buah papan asbes bujur sangkar dengan sisi 14 - 16 cm, dan ketebalan 5 - 7 mm, sesuai untuk menahan panas pada bagian bawah labu. Masing-masing papan berlubang di bagian tengah dan kedua papan berbeda hanya pada diameter lubang, satu berdiameter 4 cm dan yang lain 10 cm. Pada penggunaannya papan diletakkan bersusun satu di atas yang lainnya dengan papan yang mempunyai lubang lebih besar di atas, dan diletakkan di atas kaki tiga atau penyangga lain yang sesuai.

**Penampung** Gelas ukur 100 ml dengan pembagian skala 1 cm.

**Termometer** Untuk menghindari koreksi batang termometer, disarankan penggunaan termometer yang tercelup sebagian yang mempunyai pembagian skala praktis paling kecil (tidak lebih dari 0,2°). Termometer yang sesuai dari seri nomor 37C sampai dengan 41C, dan 102C sampai dengan 107C (seperti yang tertera pada *Termometer <31>*). Jika ditempatkan pada posisi dengan batang berada di bagian tengah leher dan bagian atas ruang kontraksi (atau pencadang raksa, jika digunakan termometer seri nomor 37C atau 38C) sama tinggi dengan bagian bawah lubang ke lengan samping.

**Sumber panas** Api Bunsen kecil atau pemanas elektrik atau mantel listrik yang dapat diatur sama seperti api Bunsen.

**Prosedur** Pasang alat, dan masukkan 100 ml cairan uji ke dalam labu dengan hati-hati agar cairan tidak masuk ke dalam lengan samping. Sisipkan termometer, lindungi

api dan rangkaian labu terhadap aliran udara luar dan lakukan pemanasan yang diatur sedemikian rupa sehingga waktu 5 hingga 10 menit berlalu sebelum tetesan pertama destilat keluar dari pendingin. Lanjutkan destilasi pada kecepatan 4 - 5 ml destilat per menit; kumpulkan destilat dalam penampung. Catat suhu pada saat tetesan pertama destilat keluar dari pendingin, dan juga saat tetesan terakhir cairan menguap dari dasar labu atau jika presentase yang telah ditetapkan telah terdestilasi. Jika tidak dinyatakan lain dalam monografi, laporkan suhu yang telah disesuaikan dengan tekanan udara dengan melakukan koreksi terhadap batang termometer menggunakan rumus:

$$t = t_0 + [(t_0 10^{-4} + 0,033)(760 - p)]$$

$t$  adalah suhu didih terkoreksi dalam skala *Celsius*;  $t_0$  adalah suhu didih terukur dalam skala *Celsius*; dan  $p$  adalah tekanan udara pada saat pengukuran dalam mmHg.

### PENETAPAN JARAK LEBUR ATAU SUHU LEBUR <1021>

Dalam Farmakope, jarak lebur atau suhu lebur zat padat didefinisikan sebagai rentang suhu atau suhu pada saat zat padat menyatu dan melebur sempurna, kecuali didefinisikan lain untuk *Metode IV* dan *V* di bawah ini. Setiap alat atau metode yang mampu dan memiliki ketelitian yang setara dapat digunakan. Ketelitian harus sering diperiksa dengan menggunakan satu atau lebih dari enam *Baku Pembanding Suhu Lebur BPFI*, lebih baik digunakan satu baku yang melebur paling dekat dengan suhu lebur senyawa yang ditetapkan seperti tertera pada *Baku Pembanding <11>*.

Enam prosedur untuk penetapan jarak lebur atau suhu lebur yang diberikan berikut ini bervariasi tergantung pada keadaan sifat dasar senyawa yang diuji. Jika tidak dinyatakan dalam monografi, gunakan *Metode III*.

Prosedur yang dikenal sebagai penetapan suhu lebur campuran, untuk jarak lebur suatu zat padat yang diuji dibandingkan dengan campuran bagian yang sama dari zat padat tersebut dan senyawa aslinya, misal: *Baku Pembanding FI* yang sesuai, dapat digunakan untuk konfirmasi uji identifikasi. Kesesuaian dari hasil pengamatan contoh asli dan campuran menunjukkan identitas kimia yang jelas dan dapat dipercaya.

**Alat I** Contoh alat penetapan jarak lebur yang sesuai terdiri dari wadah gelas untuk tangas cairan transparan, alat pengaduk yang sesuai, termometer yang akurat (seperti tertera pada *Termometer <31>*) dan sumber panas yang terkendali. Cairan dalam tangas dipilih dengan melihat suhu yang dikehendaki, tetapi umumnya digunakan parafin cair dan silikon cair yang baik untuk rentang suhu yang lebih tinggi. Cairan dalam tangas mempunyai kedalaman yang cukup sehingga termometer dapat tercelup dengan pencadang raksa tetap berada lebih kurang 2 cm di atas dasar tangas. Panas

didapat dari api bebas atau listrik. Pipa kapiler berukuran panjang lebih kurang 10 cm dan diameter dalam 0,8 - 1,2 mm dengan ketebalan dinding 0,2 - 0,3 mm.

**Alat II** Alat yang dapat digunakan untuk metode I, II, dan III. Sebagai contoh, alat yang sesuai untuk penetapan jarak lebur, alat II terdiri dari potongan logam yang dapat dipanaskan dengan kecepatan yang dapat dikendalikan dan suhu ini dapat diamati melalui sensor. Pada potongan logam terdapat lubang untuk menempatkan kapiler yang berisi zat uji dan dapat untuk mengamati proses peleburan, yang secara khusus terdiri dari seberkas cahaya dan detektor. Sinyal detektor dapat diproses oleh komputer untuk menetapkan dan menunjukkan titik atau jarak lebur, sinyal detektor dapat diplotkan untuk memperoleh estimasi visual dari titik atau jarak lebur.

**Metode I** (kelas I, alat 1) Gerus senyawa uji menjadi serbuk sangat halus, dan kecuali dinyatakan lain, jika mengandung air hidrat ubah menjadi anhidrat dengan pengeringan pada suhu yang tertera pada monografi, atau, jika senyawa tidak mengandung air hidrat, keringkan di atas bahan pengering yang sesuai selama tidak kurang dari 16 jam.

Isi pipa kapiler kaca yang salah satu ujungnya tertutup, dengan serbuk kering secukupnya hingga membentuk kolom di dasar tabung dengan tinggi 2,5 mm hingga 3,5 mm setelah diisi semampit mungkin dengan cara mengetukkan secukupnya pada permukaan padat.

Panaskan tangas hingga suhu lebih kurang  $30^{\circ}$  di bawah suhu lebur yang diperkirakan. Angkat termometer dan secepatnya tempelkan tabung kapiler pada termometer dengan membasahi keduanya dengan tetesan cairan dari tangas atau sebaliknya, dan atur hingga tinggi bahan dalam kapiler setinggi pencadang raksa. Tempatkan kembali termometer, dan lanjutkan pemanasan dengan pengadukan tetap secukupnya, hingga menyebabkan suhu naik lebih kurang  $3^{\circ}$  per menit. Pada saat suhu lebih kurang  $3^{\circ}$  di bawah dari batas bawah jarak lebur yang diperkirakan, kurangi pemanasan sehingga suhu naik lebih kurang  $1^{\circ}$  -  $2^{\circ}$  per menit. Lanjutkan pemanasan sampai melebur sempurna.

Suhu pada saat kolom zat uji yang diamati terlepas sempurna dari dinding kapiler didefinisikan sebagai permulaan melebur, dan suhu pada saat zat uji mencair seluruhnya didefinisikan sebagai akhir peleburan atau "suhu lebur". Kedua suhu tersebut berada dalam batas jarak lebur.

**Metode II** (kelas Ib, alat 1) Letakkan zat uji dalam wadah tertutup, dinginkan hingga suhu  $10^{\circ}$  atau lebih rendah selama tidak kurang dari 2 jam. Tanpa diserbukkan sebelumnya, isikan bahan yang sudah dingin ke dalam pipa kapiler seperti pada *Metode I*, kemudian segera letakkan kapiler yang telah diisi ke dalam desikator hampa, keringkan pada tekanan tidak lebih dari 20 mmHg selama 3 jam. Segera keluarkan dari desikator, lebur tutup ujung terbuka kapiler, dan sesegera mungkin lanjutkan penetapan jarak lebur

seperti berikut: Panaskan tangas hingga suhu  $10^{\circ} \pm 1^{\circ}$  di bawah rentang lebur yang diperkirakan. Kemudian masukkan kapiler yang berisi zat uji, dan panaskan dengan kenaikan suhu  $3^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$  per menit hingga melebur sempurna. Catat jarak lebur seperti tertera pada *Metode I*.

Jika ukuran partikel terlalu besar untuk kapiler, dinginkan lebih dulu zat uji seperti di atas, gerus partikel hati-hati dengan tekanan rendah hingga sesuai dengan kapiler dan segera isikan ke dalam kapiler.

**Metode III** (kelas Ia, alat 1) Siapkan zat uji dan masukkan ke dalam kapiler seperti pada *Metode I*. Panaskan tangas hingga suhu lebih kurang  $10^{\circ}$  di bawah suhu lebur yang diperkirakan, dan naikan suhu dengan kecepatan  $1^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$  per menit. Masukkan kapiler seperti *Metode I*, bila suhu mencapai  $5^{\circ}$  di bawah suhu terendah yang diperkirakan, lanjutkan pemanasan hingga melebur sempurna. Catat jarak lebur seperti pada *Metode I*.

**Metode IV** (kelas II) Lebur hati-hati senyawa yang akan ditetapkan pada suhu serendah mungkin, masukkan ke dalam pipa kapiler, yang kedua ujungnya terbuka, hingga kedalaman 10 mm. Dinginkan kapiler yang telah berisi zat uji pada suhu  $10^{\circ}$  atau lebih rendah selama 24 jam, atau tempelkan pada es selama tidak kurang dari 2 jam. Kemudian tempelkan tabung pada termometer dengan cara yang sesuai, atur dalam tangas air sehingga ujung atas dari zat uji 10 mm di bawah permukaan air dan panaskan seperti pada *Metode I* kecuali, sampai  $5^{\circ}$  dari suhu lebur yang diperkirakan, atur kenaikan suhu  $0,5^{\circ}$  -  $1,0^{\circ}$  per menit. Suhu pada saat senyawa yang diamati dalam pipa kapiler menaik adalah suhu lebur.

**Metode V** (kelas III) Lebur perlahan-lahan sejumlah zat uji, sambil diaduk, hingga mencapai suhu  $90^{\circ}$  -  $92^{\circ}$ . Pindahkan sumber panas dan biarkan leburan senyawa mendingin hingga  $8^{\circ}$  -  $10^{\circ}$  di atas suhu lebur yang diperkirakan. Dinginkan pencadang raksa (seperti tertera pada *Termometer* <31>) hingga suhu  $5^{\circ}$ , bersihkan hingga kering, dan sewaktu masih dingin celupkan ke dalam leburan senyawa hingga lebih kurang separuh bagian bawah pencadang terendam. Ambil secepatnya, dan tahan secara vertikal dari panas hingga permukaan zat uji menjadi buram, kemudian celupkan selama 5 menit ke dalam tangas air pada suhu tidak lebih dari  $16^{\circ}$ .

Lekatkan erat termometer dalam tabung reaksi sehingga ujung terendah 15 mm di atas dasar tabung reaksi. Celupkan tabung reaksi dalam tangas air yang telah diatur pada suhu-lebih kurang  $16^{\circ}$ , dan naikan suhu tangas  $2^{\circ}$  per menit hingga suhu  $30^{\circ}$ , kemudian turunkan hingga suhu  $1^{\circ}$  per menit, dan catat suhu pada saat tetesan pertama senyawa meleleh lepas dari termometer. Ulangi penetapan dua kali menggunakan senyawa yang baru dilelehkan. Jika variasi tiga kali penetapan kurang dari  $1^{\circ}$ , gunakan hasil rata-rata ketiga penetapan tersebut sebagai suhu lebur. Jika variasi tiga kali penetapan lebih besar



dari 1° , lakukan dua penetapan tambahan dan gunakan hasil rata-rata dari lima penetapan sebagai suhu lebur.

**Metode VI** (kelas I, alat 2) Siapkan bahan dan masukkan zat uji ke dalam pipa kapiler sesuai petunjuk untuk metode I. Operasikan alat sesuai dengan petunjuk pabrik. Panaskan potongan logam sampai suhu kira-kira 30° di bawah titik lebur yang diharapkan. Masukkan pipa kapiler ke dalam potongan logam dan lanjutkan pemanasan hingga suhu meningkat kira-kira 1° - 2° per menit sampai melebur sempurna. Suhu dimana sinyal detektor pertama kali meninggalkan nilai awalnya didefinisikan sebagai awal peleburan dan suhu dimana sinyal detektor mencapai nilai akhir dinyatakan sebagai akhir peleburan atau disebut titik lebur. Kedua suhu tersebut merupakan batas-batas dari jarak lebur. Jika terjadi keraguan, hanya jarak lebur atau suhu yang diperoleh pada Metode I (kelas I, alat 1) yang digunakan.

### PENETAPAN KADAR AIR <1031>

Sebagian besar bahan yang tercantum dalam farmakope berupa senyawa hidrat atau mengandung air dalam bentuk terserap, karena itu penetapan kadar air penting untuk memenuhi standar farmakope. Umumnya salah satu metode tersebut di bawah ini disebut dalam masing-masing monografi, tergantung dari sifat bahan. Dalam hal tertentu, diperbolehkan memilih salah satu dari tiga metode. Jika bahan mengandung air hidrat dapat digunakan *Metode I (Titrimetri)*, *Metode II (Azeotropi)*, atau *Metode III (Gravimetri)*, seperti tertera pada masing-masing monografi dan persyaratan kadar air tercantum pada subjudul *Air*.

Subjudul *Susut Pengeringan* <1121> digunakan untuk bahan yang pada pemanasan tidak hanya kehilangan air.

#### METODE I (TITRIMETRI)

Tetapkan air dengan *Metode Ia*, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

##### Metode Ia (Titration Langsung)

**Prinsip** Penetapan kadar air secara titrimetri berdasarkan atas reaksi secara kuantitatif air dengan larutan anhidrat belerang dioksida dan *iodum* dengan adanya dapar yang bereaksi dengan ion hidrogen.

Dalam larutan titrimetri asli, yang dikenal sebagai pereaksi Karl Fisher, belerang dioksida dan *iodum* dilarutkan dalam *piridina P* dan *metanol P*. Zat uji dapat dititrasi dengan *Pereaksi* secara langsung, atau analisis dapat dilakukan dengan titrasi kembali. Stokiometri reaksi tersebut tidak tepat, dan keberulangan penetapan bergantung pada beberapa faktor seperti kadar relatif komponen *Pereaksi*, sifat pelarut iner yang digunakan untuk melarutkan zat uji, dan teknik yang digunakan pada penetapan tertentu. Karena itu, untuk mencapai akurasi

yang diinginkan harus digunakan suatu teknik yang dibakukan secara empirik. Presisi dalam metode ini sebagian besar bergantung pada sejauh mana kelembaban udara dihilangkan dari sistem. Titrasi air biasanya dilakukan menggunakan *metanol mutlak P* sebagai pelarut zat uji; tetapi, pelarut lain yang sesuai dapat digunakan untuk zat uji khusus.

**Alat** Dapat digunakan alat yang mencegah masuknya kelembaban udara dan penetapan titik akhir yang memadai. Untuk larutan tidak berwarna, yang dititrasi langsung, titik akhir dapat diamati secara visual sebagai perubahan warna kuning kenari menjadi kuning kecoklatan. Kebalikannya diamati pada titrasi kembali zat uji. Tetapi pada umumnya titik akhir ditetapkan secara elektrometrik menggunakan alat dengan sirkuit listrik sederhana yang berfungsi untuk memberikan lebih kurang potensial 200 mV yang digunakan, antara sepasang elektroda platina yang dicelupkan dalam larutan yang akan dititrasi. Pada titik akhir titrasi sedikit pereaksi berlebih menaikkan aliran arus sampai antara 50 dan 150 mikroampere selama 30 detik hingga 30 menit bergantung pada larutan yang dititrasi. Waktu paling pendek terjadi untuk zat yang larut dalam pereaksi. Beberapa jenis titrator otomatis, perubahan arus atau potensial yang tiba-tiba pada titik akhir akan menutup katup solenoid pada buret yang mengendalikan penetesan titran. Umumnya alat yang diperoleh dalam perdagangan terdiri atas sistem tertutup yang mempunyai satu atau dua buret otomatis dan labu titrasi tertutup rapat dilengkapi dengan elektrode yang diperlukan dan pengaduk magnetik. Udara dalam sistem dipertahankan kering dengan zat pengering yang sesuai dan labu titrasi dapat dibersihkan dengan aliran nitrogen kering atau arus udara kering.

**Pereaksi** Buat Pereaksi Karl Fischer sebagai berikut: Tambahkan 125 g *iodum P* ke dalam larutan yang mengandung 670 ml *metanol P* dan 170 ml *piridina P*, dan dinginkan. Masukkan 100 ml *piridina P* ke dalam silinder berskala 250 ml, dan dinginkan dalam tangas es, alirkan belerang dioksida kering sampai volume mencapai 200 ml. Perlahan-lahan tambahkan larutan ini, sambil dikocok, ke dalam campuran larutan *iodum* yang didinginkan. Kocok baik-baik untuk melarutkan *iodum*. Biarkan semalam sebelum dibakukan. Satu ml larutan ini jika dibuat segar setara dengan lebih kurang 5 mg air, tetapi larutan ini terurai secara bertahap; karena itu bakukan dalam waktu 1 jam sebelum digunakan, atau tiap hari jika digunakan terus-menerus. Selama digunakan lindungi dari cahaya. Simpan larutan pereaksi induk dalam wadah bersumbat kaca tertutup rapat, terlindungi dari cahaya, dalam lemari pendingin.

Dapat digunakan larutan Pereaksi Karl Fischer yang telah distabilkan yang ada dalam perdagangan. Pereaksi yang ada dalam perdagangan yang mengandung pelarut atau bahan dasar selain dari piridina dan/ atau alkohol-alkohol selain metanol dapat juga digunakan. Ini merupakan larutan tunggal atau pereaksi yang dibuat langsung dengan mencampur komponen pereaksi yang

ada dalam dua larutan pereaksi yang berbeda. *Pereaksi* yang diencerkan yang tercantum dalam beberapa monografi harus diencerkan menurut petunjuk pabrik. Baik metanol maupun pelarut lain yang sesuai, seperti etilen glikol monometil eter dapat digunakan sebagai pengencer.

**Larutan uji** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, gunakan sejumlah zat uji yang ditimbang atau diukur saksama yang diperkirakan mengandung 10 mg sampai 250 mg air.

Jika zat uji berupa aerosol dengan propelan, masukkan dalam lemari pembeku selama tidak kurang dari 2 jam, buka wadah, dan uji 10,0 ml zat uji yang dicampur baik. Pada titrasi zat uji, tetapkan titik akhir pada suhu 10° atau lebih tinggi.

Jika zat uji berupa kapsul, gunakan sejumlah isi kapsul yang telah dicampur, dari tidak kurang dari 4 kapsul.

Jika zat uji berupa tablet, gunakan serbuk tablet dari tidak kurang dari 4 tablet yang diserbuk sampai halus dalam atmosfer dengan suhu dan kelembaban relatif yang diketahui tidak mempengaruhi hasil.

Jika dalam monografi tercantum bahwa zat uji higroskopis, gunakan alat suntik kering, masukkan sejumlah volume metanol atau pelarut lain yang sesuai, yang diukur saksama ke dalam wadah yang telah ditara, dan kocok untuk melarutkan zat uji. Dengan menggunakan alat suntik yang sama, pindahkan larutan dari wadah, ke dalam labu titrasi yang disiapkan seperti tertera pada *Prosedur*. Ulangi prosedur dengan porsi kedua metanol atau pelarut lain yang sesuai yang diukur saksama, masukkan bilasan ke dalam labu titrasi, dan titrasi segera. Tetapkan kadar air, dalam mg, dari jumlah pelarut dengan jumlah total volume yang sama seperti yang digunakan untuk melarutkan zat uji dan untuk mencuci wadah dan alat suntik, seperti tertera pada *Pembakuan larutan air untuk titrasi kembali* dan kurangkan harga ini dari kadar air, dalam mg, yang diperoleh dalam titrasi zat uji. Keringkan wadah dan sumbat pada suhu 100° selama 3 jam, dinginkan dalam desikator dan timbang. Tetapkan bobot zat uji dari perbedaan bobot dari bobot wadah semula.

**Pembakuan pereaksi** Masukkan sejumlah *metanol P* atau pelarut lain yang sesuai ke dalam labu titrasi hingga elektrode terendam, dan tambahkan *Pereaksi* secukupnya untuk memberikan warna titik akhir yang spesifik, atau 100±50 mikroamper arus searah pada lebih kurang 200 mV potensial yang digunakan.

Untuk penetapan sejumlah kecil air (kurang dari 1 %), dapat digunakan natrium tartrat sebagai baku pembanding air yang sesuai. Tambahkan segera 150 mg sampai 350 mg natrium tartrat (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>·2H<sub>2</sub>O), yang ditimbang saksama dari perbedaan bobot, dan titrasi sampai titik akhir. Hitung faktor kesetaraan air, *F*, dalam mg air per ml pereaksi, dengan rumus:

$$2 \left( \frac{18,02}{230,08} \right) \left( \frac{W}{V} \right)$$

18,02 dan 230,08 berturut-turut adalah bobot molekul air dan natrium tartrat dihidrat; *W* adalah bobot, dalam mg, natrium tartrat dihidrat; *V* adalah volume, dalam ml, pereaksi yang digunakan pada titrasi kedua.

Untuk ketepatan penetapan sejumlah air (lebih dari 1 %), gunakan *Air Murni* yang diperoleh dari destilasi sebagai baku pembanding. Tambahkan segera antara 25 dan 250 mg air, yang ditimbang saksama dengan perbedaan bobot, dari pipet timbang atau dari alat suntik atau dari mikropipet yang telah dikalibrasi, jumlah yang digunakan ditentukan oleh kekuatan pereaksi dan ukuran buret, seperti tercantum pada *Peralatan Volumetrik* <21>. Titrasi sampai titik akhir. Hitung faktor kesetaraan air, *F*, dalam mg air per ml pereaksi, dengan rumus:

$$\left( \frac{W}{V} \right)$$

*W* adalah bobot air dalam mg, dan *V* adalah volume pereaksi yang dibutuhkan dalam ml.

**Prosedur** Kecuali dinyatakan lain, masukkan 35 ml hingga 40 ml *metanol P* atau pelarut lain yang sesuai ke dalam labu titrasi, dan titrasi dengan *Pereaksi* sampai titik akhir secara elektrometrik atau visual untuk menetapkan kelembaban yang mungkin ada (Abaikan volume pereaksi yang digunakan karena tidak termasuk dalam perhitungan). Tambahkan segera *Larutan Uji*, campur dan titrasi dengan *Pereaksi* sampai titik akhir secara elektrometrik atau visual. Hitung kadar air dalam zat uji, dalam mg, dengan rumus:

$$S \times F$$

*S* adalah volume *Pereaksi*, yang digunakan pada titrasi kedua, dalam ml dan *F* adalah faktor kesetaraan air dari *Pereaksi*.

#### Metode Ib (Titrasi kembali)

**Prinsip** Lihat keterangan pada *Prinsip* dalam *Metode Ia*. Pada titrasi kembali, sejumlah *Pereaksi* berlebihan ditambahkan pada zat uji, dibiarkan beberapa lama sampai reaksi sempurna dan kelebihan *Pereaksi* dititrasi dengan larutan baku air dalam pelarut seperti metanol. Prosedur titrasi kembali lebih umum digunakan dan menghindarkan kesulitan yang mungkin terjadi pada titrasi langsung suatu zat yang melepaskan air secara perlahan-lahan.

**Alat, pereaksi dan larutan uji** Gunakan *Metode Ia*.

**Pembakuan larutan air untuk titrasi kembali** Buat *Larutan air* dengan mengencerkan 2 ml air dalam metanol atau pelarut lain yang sesuai hingga 1000 ml. Bakukan larutan ini dengan mentitrasi 25,0 ml dengan *Pereaksi*, yang sebelumnya telah dibakukan seperti

tertera pada *Pembakuan pereaksi*. Hitung kadar air, dalam mg per ml, *Larutan air* dengan rumus:

$$\frac{V'F}{25}$$

$V'$  adalah volume *Pereaksi* yang digunakan;  $F$  adalah faktor kesetaraan air dari *Pereaksi*. Tetapkan kadar air dari *Larutan air* tiap minggu dan bakukan *Pereaksi* secara berkala sesuai penggunaan terhadap *Larutan air*.

**Prosedur** Bila dalam monografi tercantum kadar air harus ditetapkan dengan *Metode Ib*, masukkan 35 - 40 ml metanol atau pelarut lain yang sesuai ke dalam labu titrasi, dan titrasi dengan *Pereaksi* sampai titik akhir secara elektrometrik atau visual. Secara cepat tambahkan *Larutan uji*, campur dan tambahkan sejumlah berlebih *Pereaksi* yang diukur saksama. Biarkan beberapa waktu sampai reaksi sempurna, dan titrasi *Pereaksi* yang tidak digunakan dengan *Larutan air* yang telah dibakukan sampai titik akhir secara elektrometrik atau visual. Hitung kadar air dalam zat uji, dalam mg, dengan rumus:

$$F(X' - XR)$$

$F$  adalah faktor kesetaraan air dari *Pereaksi*;  $X'$  adalah volume *Pereaksi* yang ditambahkan setelah zat uji, dalam ml;  $X$  adalah volume dari *Larutan air* yang telah dibakukan untuk menetralkan *Pereaksi* yang tidak digunakan, dalam ml;  $R$  adalah rasio  $V'/25$  (ml *Pereaksi*/ ml *Larutan air*), yang ditetapkan dari *Pembakuan larutan air untuk titrasi kembali*.

#### Metode Ic (Titrasi "Coulometri")

**Prinsip** Reaksi Karl Fischer digunakan dalam penetapan kadar air secara "coulometri". *Iodum* tidak ditambahkan dalam bentuk larutan volumetrik tetapi dihasilkan dalam larutan yang mengandung iodida oleh oksidasi anoda. Sel reaksi umumnya terdiri dari kompartemen besar anoda dan kompartemen kecil katoda yang dipisahkan oleh suatu diafragma. Tipe sel reaksi lainnya yang sesuai (misalnya, tanpa diafragma) dapat juga digunakan. Setiap kompartemen mempunyai elektroda platina yang menyalurkan arus melalui sel. *Iodum* yang dihasilkan pada elektroda anoda, segera bereaksi dengan air yang ada dalam kompartemen tersebut. Ketika seluruh air telah digunakan, *iodum* berlebih yang terjadi menunjukkan titik akhir yang umumnya dideteksi secara elektrometrik. Kelembaban dieliminasi dari sistem dengan pre-elektrolisis. Penggantian larutan Karl Fischer setiap selesai penetapan tidak diperlukan karena penetapan berikutnya dapat dilakukan dalam larutan *Pereaksi* yang sama. Persyaratan pada metode ini, setiap komponen zat uji harus dapat digunakan bersama komponen lain dan tidak mengalami reaksi samping. Contoh biasanya dimasukkan ke dalam bejana sebagai larutan dengan menyuntikkan melalui septum. Gas dapat dimasukkan ke dalam sel melalui pipa inlet gas yang sesuai. Presisi dalam metode ini sebagian besar bergantung pada sejauh

mana kelembaban udara dihilangkan dari sistem. Pemasukan zat padat ke dalam sel tidak disarankan kecuali dilakukan tindakan pencegahan seperti bekerja dalam "glove-box" yang berisi gas iner kering. Pengendalian sistem dapat dimonitor dengan pengukuran jumlah "drift" pada garis dasar. Metode ini khususnya sesuai untuk zat iner secara kimia seperti hidrokarbon, alkohol dan eter. Dibandingkan dengan titrasi Karl Fischer volumetrik, "Coulometri" merupakan metode mikro.

**Alat** Setiap alat yang tersedia di perdagangan mempunyai sistem yang tertutup kepad dilengkapi dengan elektroda yang diperlukan dan pengaduk magnetik yang sesuai. Mikroprosesor dapat mengendalikan prosedur analitik dan menunjukkan hasil. Kalibrasi alat tidak diperlukan karena arus yang diperlukan dapat diukur secara tepat.

**Pereaksi** Lihat *Pereaksi* pada *Metode Ia* tanpa *iodum P*.

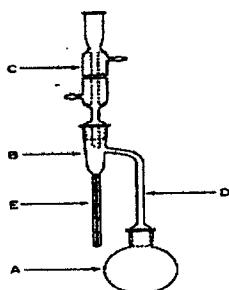
**Larutan Uji** Jika zat uji berupa zat padat yang larut, timbang saksama sejumlah zat dan larutkan dalam metanol anhidrat atau pelarut lain yang sesuai dalam jumlah yang tepat. Cairan dapat langsung digunakan atau diencerkan secara saksama dalam pelarut anhidrat yang tepat.

Jika zat uji berupa zat padat yang tidak larut, air dapat diekstraksi menggunakan pelarut anhidrat yang sesuai dalam jumlah yang tepat, ditimbang saksama dan disuntikkan ke dalam kompartemen anoda. Sebagai alternatif dapat digunakan teknik penguapan, air dilepas dan diuapkan dengan pemanasan zat uji dalam tabung yang dialiri gas iner kering, kemudian gas ini dimasukkan ke dalam sel.

**Prosedur** Gunakan alat suntik kering, suntikkan dengan cepat larutan uji yang telah diukur saksama dan diperkirakan mengandung 0,5 - 5 mg air atau sesuai dengan yang disarankan oleh pembuat alat, ke dalam kompartemen anoda, campur dan lakukan titrasi coulometri hingga titik akhir yang dideteksi secara langsung pada alat secara elektrometrik. Baca kadar air larutan uji yang ditunjukkan oleh alat dan hitung persentase yang ada dalam zat. Lakukan penetapan blangko dan buat koreksi jika perlu.

#### METODE II AZEOTROPI (DESTILASI TOLUENA)

**Alat** Gunakan sebuah labu kaca *A* 500 ml yang dihubungkan melalui sebuah perangkap *B* kepada pendingin refluks *C* dengan sambungan kaca asah (lihat *Gambar*).



Alat Kelembaban Toluena

Dimensi kritis bagian-bagian peralatan adalah sebagai berikut: Diameter dalam tabung penghubung *D* adalah 9 - 11 mm. Tabung perangkap, dengan panjang 235 - 240 mm. Pendingin, bila dari jenis tabung lurus, panjang lebih kurang 400 mm dan diameter lubang tidak kurang dari 8 mm. Tabung penerima *E* mempunyai kapasitas 5 ml dan bagian silindris, panjang 146 - 156 mm, berskala 0,1 ml, sehingga kesalahan pembacaan tidak lebih besar dari 0,05 ml untuk volume yang ditunjukkan. Sumber panas sebaiknya pemanas listrik dengan pengatur rheostat atau tangas minyak. Bagian atas labu dan tabung penghubung dapat diisolasi dengan asbes.

Bersihkan tabung penerima dan pendingin dengan campuran pencuci asam kromat, bilas sampai bersih dengan air, dan keringkan dalam oven. Siapkan toluena yang akan digunakan dengan mula-mula mengocok dengan sejumlah kecil air, pisahkan kelebihan air dan destilasi toluena.

**Prosedur** Masukkan ke dalam labu kering sejumlah zat yang ditimbang saksama sampai paling dekat dengan sentigram yang diperkirakan menghasilkan 2 - 4 ml air. Bila zat dalam bentuk pasta, timbang dalam wadah lembaran logam dengan ukuran yang dapat melewati leher labu. Bila zat dapat menimbulkan gejolak, tambahkan dalam jumlah cukup pasir yang telah dicuci dan kering untuk menutup dasar labu, atau sejumlah tabung kapiler untuk penentuan suhu lebur dengan panjang lebih kurang 100 mm, yang dileburkan pada bagian ujung atas. Masukkan lebih kurang 200 ml toluena *P* ke dalam labu, hubungkan alat, dan isi tabung penerima *E* dengan toluena yang dituangkan melalui puncak pendingin. Panaskan labu perlahan-lahan selama 15 menit dan bila toluena mulai mendidih, suling dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes per detik sampai sebagian besar air tersuling. Kemudian naikan kecepatan penyulingan hingga lebih kurang 4 tetes per detik. Bila semua air tersuling, bilas bagian dalam tabung kondensor dengan toluena, sambil menyikat tabung kondensor dengan sikat tabung yang dilekatkan pada kawat tembaga dan dijenuhkan dengan toluena. Lanjutkan penyulingan selama 5 menit, lalu hentikan pemanasan dan dinginkan sampai suhu kamar. Bila ada tetesan air menempel pada dinding tabung penerima, lepaskan dengan sikat yang terdiri atas karet yang diikatkan pada kawat tembaga dan dibasahi dengan toluena. Bila air dan toluena memisah sempurna, baca volume air, dan hitung persentase yang ada dalam zat.

### METODE III (GRAVIMETRI)

**Prosedur untuk Bahan Kimia** Lakukan seperti tertera pada masing-masing monografi, siapkan zat seperti tertera pada *Penetapan Susut Pengeringan* <1121>.

**Prosedur untuk Bahan Biologis** Lakukan seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Prosedur untuk Obat Tanaman** Masukkan lebih kurang 10 g zat, yang disiapkan seperti tertera pada *Pengambilan Contoh dan Metode Analisis Simplisia* <671> dan timbang saksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105° selama 5 jam, dan timbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%.

### PENETAPAN KADAR ETANOL <1041>

#### Metode I Cara Destilasi

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, lakukan penetapan dengan *Metode I*. Cara ini sesuai untuk penetapan sebagian besar ekstrak cair dan tingtura asalkan kapasitas labu destilasi cukup (umumnya 2 hingga 4 kali volume cairan yang akan dipanaskan) dan kecepatan destilasi diatur sedemikian sehingga diperoleh destilat yang jernih. Destilat yang keruh dapat dijernihkan dengan pengocokan menggunakan *talk P* atau *kalsium karbonat P*, dan saring, setelah itu suhu filtrat diatur dan kandungan etanol ditetapkan dari bobot jenis. Lakukan semua pekerjaan dengan hati-hati untuk mengurangi kehilangan etanol oleh penguapan.

Untuk mencegah buih yang mengganggu dalam cairan selama destilasi, tambahkan asam kuat seperti *asam fosfat P*, *asam sulfat P* atau *asam tanat P* atau cegah dengan penambahan larutan *kalsium klorida P* sedikit berlebih, atau sedikit *parafin P* atau minyak silikon sebelum destilasi.

Cegah gejolak selama destilasi dengan penambahan keping-keping berpori dari bahan yang tidak larut seperti *silikon karbida P*, atau manik-manik.

*Cara untuk cairan yang diperkirakan mengandung etanol 30% atau kurang* Pipet tidak kurang dari 25 ml cairan uji ke dalam alat destilasi yang sesuai, catat suhu pada pemipetan. Tambahkan air volume yang sama, destilasi hingga diperoleh destilat lebih kurang 2 ml lebih kecil dari volume cairan uji yang dipipet. Atur suhu destilat hingga sama dengan suhu pada waktu pemipetan. Tambahkan air secukupnya hingga volume sama dengan volume cairan uji. Destilat jernih atau keruh lemah dan hanya mengandung lebih dari sesepora sisa zat mudah menguap lainnya. Tetapkan bobot jenis cairan pada suhu 25°C seperti tertera pada *Penetapan Bobot Jenis* <981>. Hitung presentase dalam volume, dari C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH dalam cairan menggunakan *Tabel Bobot Jenis dan Kadar Etanol*.

*Cara untuk cairan yang diperkirakan mengandung etanol lebih dari 30 %* Lakukan menurut cara diatas, kecuali gunakan cairan uji yang diencerkan dengan air lebih kurang dua kali volume cairan uji. Kumpulkan destilat hingga lebih kurang 2 ml lebih kecil dari dua kali volume cairan uji yang dipipet, atur suhu sama dengan cairan uji. Tambahkan air secukupnya hingga volume dua kali volume cairan uji yang dipipet, campur dan tetapkan bobot jenis. Kadar  $C_2H_5OH$  dalam volume destilat, sama dengan setengah kadar etanol dalam cairan.

**Asam Dan Basa Mudah Menguap** Pada sediaan yang mengandung basa mudah menguap tambahkan *asam sulfat encer P* hingga sedikit asam, sebelum didestilasi. Jika sediaan mengandung asam mudah menguap, buat sedikit basa dengan *natrium hidroksida LP*.

**Gliserin** Pada cairan yang mengandung gliserin tambahkan air secukupnya hingga sisa setelah didestilasi mengandung tidak kurang dari 50% air.

**Iodium** Pada larutan yang mengandung iodium bebas, tambahkan *serbuk zink P*, sebelum didestilasi, atau hilangkan warna dengan penambahan larutan *natrium tiosulfat P* (1 dalam 10) secukupnya, dan beberapa tetes *natrium hidroksida LP*.

**Zat Mudah Menguap Lainnya** Spirit, eliksir, tingtura dan sediaan sejenis yang mengandung sejumlah cukup banyak zat mudah menguap lain selain etanol, seperti minyak atsiri, kloroform, eter, kamfer dan lain-lain memerlukan penanganan khusus sebagai berikut:

*Untuk cairan yang diperkirakan mengandung 50% etanol atau kurang* Pipet 25 ml cairan uji ke dalam corong pisah, tambahkan air volume sama. Jenuhkan campuran dengan *natrium klorida P*, tambahkan 25 ml *heksana P* dan kocok untuk mengekstraksi zat mudah menguap lain yang mengganggu. Pisahkan lapisan bawah ke dalam corong pisah kedua. Ulangi ekstraksi dua kali, tiap kali dengan 25 ml *heksana P*. Ekstraksi kumpulan larutan *heksana P* tiga kali, tiap kali dengan 10 ml larutan jenuh *natrium klorida P*. Destilasi kumpulan larutan garam, tampung destilat hingga sejumlah volume mendekati volume cairan uji semula.

*Untuk cairan yang diperkirakan mengandung etanol lebih dari 50%.* Encerkan cairan uji dengan air hingga kadar etanol lebih kurang 25% kemudian lanjutkan menurut cara diatas mulai dari "Jenuhkan campuran dengan *natrium klorida P*..".

Jika hanya mengandung sedikit minyak atsiri dan hasil destilasi keruh, perlakuan dengan pelarut *heksana P* seperti di atas tidak dilakukan, destilat dapat dijernihkan dan dapat digunakan untuk penetapan bobot jenis dengan mengocok dengan *heksana P* lebih kurang seperlima bagian volume atau dengan penyaringan melalui lapisan tipis talk.

## Metode II Cara Kromatografi Gas

Metode Iia digunakan jika Metode II dinyatakan dalam masing-masing monografi.

### Metode Iia

Alat Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 4 mm x 1,8 m berisi fase diam *S3* dengan ukuran partikel 100 hingga 120 mesh. Gunakan *nitrogen P* atau *helium P* sebagai gas pembawa. Sebelum digunakan, kondisikan kolom semalam pada suhu 235°, alirkan gas pembawa dengan laju alir lambat. Suhu kolom dipertahankan pada 120°, injektor dan detektor dipertahankan pada 210°. Atur laju alir gas pembawa dan suhu sehingga baku internal asetone nitril tereluasi dalam waktu 5 hingga 10 menit.

### Larutan

*Larutan baku internal* Encerkan 5,0 ml *asetone nitril P* dengan air hingga 250,0 ml.

*Larutan baku persediaan* Encerkan 5,0 ml *etanol mutlak P* dengan air hingga 250,0 ml.

*Larutan baku* Pipet masing-masing 5 ml *Larutan baku persediaan* dan *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji persediaan* Encerkan zat uji secara bertahap dengan air hingga kadar etanol lebih kurang 2% v/v.

*Larutan uji* Pipet masing-masing 5 ml *Larutan uji persediaan* dan *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan dengan air sampai tanda.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah masing-masing 2 kali sejumlah volume sama (lebih kurang 5  $\mu$ l) *Larutan uji* dan *Larutan baku* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur perbandingan respons puncak. Hitung persentase etanol v/v dalam contoh dengan rumus:

$$CD \frac{R_U}{R_S}$$

*C* adalah kadar etanol mutlak, *D* adalah faktor pengenceran *Larutan uji persediaan*. *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak dalam etanol terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Uji kesesuaian sistem** Pada kromatogram yang sesuai, faktor resolusi, *R*, tidak kurang dari 2; faktor ikutan puncak etanol tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif perbandingan respons puncak etanol dan baku internal pada enam kali penyuntikan *Larutan baku* tidak lebih dari 2,0%.

### Metode II b

Alat Kromatograf gas dilengkapi dengan injektor *split* dengan perbandingan *split* 5 : 1, detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler 30 m x 0,53 mm dilapisi fase diam *G43* setebal 3,0  $\mu$ m. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa dengan laju liniar 34,0 cm per detik. Kromatograf di program sebagai berikut: suhu kolom

dipertahankan pada 50° selama 5 menit; kemudian suhu dinaikkan dengan kecepatan 10° per menit hingga mencapai 200° dan dipertahankan selama 4 menit. Pertahankan suhu port injektor pada 210° dan detektor pada 280°.

#### Larutan

*Larutan baku internal* Encerkan 5,0 ml asetonitril P dengan air hingga 250,0 ml.

*Larutan baku persediaan* Encerkan 5,0 ml etanol mutlak P dengan air hingga 250,0 ml.

*Larutan baku* Pipet masing-masing 5 ml *Larutan baku persediaan* dan *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan dengan air sampai tanda.

*Larutan uji persediaan* Encerkan zat uji secara bertahap dengan air hingga kadar etanol lebih kurang 2% v/v.

*Larutan uji* Pipet masing-masing 5 ml *Larutan uji persediaan* dan *Larutan baku internal* ke dalam labu tentukur 50 ml, encerkan dengan air sampai tanda.

**Prosedur** Suntikkan secara terpisah masing-masing 2 kali sejumlah volume sama (0,2 hingga 0,5 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur perbandingan respons puncak. Hitung persentase etanol v/v dalam contoh dengan rumus:

$$CD \frac{R_U}{R_S}$$

*C* adalah kadar etanol baku, *D* adalah faktor pengenceran volume *Larutan uji persediaan*. *R<sub>U</sub>* dan *R<sub>S</sub>* berturut-turut adalah perbandingan respons puncak dalam etanol terhadap baku internal dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Uji kesesuaian sistem** Pada kromatogram yang sesuai, faktor resolusi, *R*, antara etanol dan larutan baku internal tidak kurang dari 4; faktor ikutan pada puncak etanol tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif perbandingan respons puncak *etanol* dan *baku internal* pada enam kali penyuntikan ulang *Larutan baku* tidak lebih dari 4,0%.

#### PENETAPAN KEKENTALAN <1051>

Kekentalan adalah suatu sifat cairan yang berhubungan erat dengan hambatan untuk mengalir. Kekentalan didefinisikan sebagai gaya yang diperlukan untuk menggerakkan secara berkesinambungan suatu permukaan datar melewati permukaan datar lain dalam kondisi mapan tertentu bila ruang diantara permukaan tersebut diisi dengan cairan yang akan ditentukan kekentalannya. Kekentalan adalah tekanan geser dibagi laju tegangan geser. Satuan dasarnya yaitu *poise*; namun oleh karena kekentalan yang diukur umumnya merupakan harga pecahan *poise*, maka lebih mudah digunakan satuan dasar *sentipoise* (1 *poise* = 100 *sentipoise*). Penentuan suhu penting karena kekentalan berubah sesuai suhu;

secara umum kekentalan menurun dengan naiknya suhu. Bila skala kekentalan mutlak diukur dalam *poise* atau *sentipoise*, maka untuk memudahkan umumnya digunakan skala kinematik dalam *stoke* dan *sentistoke* (1 *stoke* = 100 *sentistoke*). Untuk memperoleh kekentalan kinematik dari kekentalan mutlak, kekentalan mutlak dibagi dengan kerapatan cairan pada temperatur yang sama; yaitu kekentalan kinematik = (kekentalan mutlak)/kerapatan. Ukuran satuan kekentalan dalam rentang normal dinyatakan dalam *sentistoke*. Perkiraan kekentalan dalam *sentistoke* pada suhu kamar, untuk eter 0,2; air 1; minyak tanah 2,5; minyak mineral 20 - 70 dan madu, 10.000.

Kekentalan mutlak dapat diukur secara langsung jika dimensi alat pengukur diketahui dengan tepat, tetapi umumnya pengukuran lebih praktis dilakukan dengan mengkalibrasi alat menggunakan cairan yang diketahui kekentalannya, kemudian kekentalan cairan uji ditetapkan dengan membandingkan terhadap kekentalan cairan yang telah diketahui.

Banyak zat, seperti gom, yang digunakan dalam bidang farmasi mempunyai kekentalan yang bervariasi, dan kebanyakan bersifat kurang menghambat aliran pada kecepatan aliran yang lebih tinggi. Pada keadaan ini, dipilih suatu kondisi pengukuran, dan pengukuran yang diperoleh dinyatakan sebagai kekentalan yang terukur. Karena perubahan kondisi pengukuran akan menyebabkan perubahan nilai kekentalan terukur suatu zat, maka dimensi alat dan kondisi pengukuran harus diikuti dengan saksama.

**Pengukuran Kekentalan** Metode yang umum digunakan untuk pengukuran kekentalan meliputi penetapan waktu yang dibutuhkan oleh sejumlah volume tertentu cairan untuk mengalir melalui kapiler. Banyak jenis viskosimeter tabung kapiler telah dirancang, tetapi viskosimeter Ostwald dan Ubbelohde adalah yang paling sering digunakan. Beberapa tipe dijelaskan dengan petunjuk pemakaian oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN). Kekentalan minyak dinyatakan dalam skala arbitrase yang dapat berbeda antara satu negara dengan negara lain, karena penggunaan alat yang berbeda. Alat yang paling banyak digunakan adalah Redwood nomor 1 dan nomor 2, Engler, Saybolt Universal, dan Saybolt Furol. Tiap alat ini menggunakan satuan arbitrase menurut nama masing-masing alat. Suhu baku digunakan untuk memudahkan pemakaian alat. Pada alat Saybolt, pengukuran umumnya dilakukan pada suhu 100°F dan 210°F; alat Redwood dapat digunakan pada beberapa suhu hingga 250°F; dan hasil yang diperoleh dengan alat Engler umumnya pada 20°C dan 50°C. Jenis alat yang relatif mudah dan cepat adalah viskosimeter rotasi, yang menggunakan gasing atau kumparan yang dicelupkan ke dalam zat uji, dan mengukur tahanan gerak dari bagian yang berputar. Tersedia kumparan yang berbeda untuk rentang kekentalan tertentu, dan umumnya dilengkapi dengan beberapa kecepatan rotasi. Alat rotasi lain mempunyai gasing yang statis dan cawan berputar. Viskosimeter Brookfield, Rotouisco dan Stormer merupakan contoh alat gasing berputar dan MacMichael

merupakan contoh alat cawan berputar. Banyak alat rotasi lain dengan rancangan yang lebih canggih dilengkapi dengan alat khusus untuk pembacaan atau pencatatan dan dengan rentang kecepatan rotasi yang lebih luas.

Bila hanya diperlukan jenis alat tertentu, jenis alat ini akan tertera pada masing-masing monografi.

Untuk mengukur kekentalan, suhu zat uji yang diukur harus dikendalikan dengan tepat, karena perubahan suhu yang kecil dapat menyebabkan perubahan kekentalan yang berarti. Untuk pengukuran sediaan farmasi, suhu dipertahankan dalam batas lebih kurang  $0,1^{\circ}$ .

**Prosedur untuk Turunan Selulosa** Pengukuran kekentalan larutan metilselulosa jenis kekentalan tinggi merupakan hal khusus, karena larutan ini terlalu kental untuk viskosimeter biasa. Viskosimeter Ubbelohde dapat digunakan untuk mengukur kekentalan larutan metilselulosa.

**Kalibrasi Viskosimeter Tipe Kapiler** Tentukan konstanta viskosimeter,  $k$ , untuk setiap viskosimeter dengan menggunakan minyak yang telah diketahui kekentalannya.

*Viskosimeter Tipe Ostwald* Isi tabung dengan sejumlah tertentu minyak (atur suhu pada  $20,0^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$ ) sebagaimana dinyatakan oleh pabrik. Atur meniskus cairan dalam tabung kapiler hingga garis graduasi teratas dengan bantuan tekanan atau pengisapan. Buka kedua tabung pengisi dan tabung kapiler agar cairan dapat mengalir bebas ke dalam wadah melawan tekanan atmosfer. [Catatan Kegagalan membuka salah satu tabung akan menyebabkan kesalahan pengamatan.] Catat waktu, dalam detik, yang diperlukan cairan untuk mengalir dari batas atas hingga batas bawah dalam tabung kapiler.

*Viskosimeter Tipe Ubbelohde* Masukkan sejumlah minyak ke dalam tabung pengisi, atur suhu pada  $20,0^{\circ}\pm 0,1^{\circ}$  dan pindahkan ke tabung kapiler dengan pengisapan perlahan, dan hati-hati untuk mencegah terbentuknya gelembung udara dalam cairan dengan menutup lubang tabung pengisi. Atur meniskus cairan dalam tabung kapiler hingga garis graduasi teratas. Buka lubang udara dan tabung kapiler agar cairan dapat mengalir bebas ke dalam wadah melawan tekanan atmosfer. [Catatan Kegagalan membuka lubang tabung pengisi sebelum melepas tabung kapiler akan menyebabkan kesalahan pengamatan.] Catat waktu dalam detik, yang diperlukan cairan untuk mengalir dari batas atas hingga batas bawah dalam tabung kapiler.

#### Perhitungan

Hitung konstanta viskosimeter,  $k$ , dengan rumus:

$$k = \frac{v}{dt}$$

$v$  adalah kekentalan cairan yang diketahui dalam sentipoise;  $d$  adalah bobot jenis cairan uji pada  $20^{\circ}/20^{\circ}$ ;  $t$  adalah waktu mengalir cairan dalam detik, dari batas atas hingga batas bawah dalam tabung kapiler.

Jika viskosimeter diperbaiki, harus dikalibrasi ulang, karena perbaikan yang kecil seringkali menyebabkan perubahan bermakna pada konstanta,  $k$ .

### PENETAPAN PARTIKEL LOGAM DALAM SALEP MATA <1061>

Uji berikut dirancang untuk membatasi jumlah dan ukuran partikel logam yang diperbolehkan dalam salep mata.

**Prosedur** Keluarkan sesempurna mungkin, isi 10 tube, masukkan masing-masing ke dalam cawan Petri terpisah ukuran 60 mm, alas datar, jernih dan bebas goresan. Tutup cawan, panaskan pada suhu  $85^{\circ}$  selama 2 jam, jika perlu naikkan suhu sedikit lebih tinggi sampai salep meleleh sempurna. Dengan menjaga kemungkinan terjadinya gangguan terhadap massa yang meleleh, biarkan masing-masing mencapai suhu kamar dan membeku.

Angkat tutup, balikkan cawan Petri sehingga berada di bawah mikroskop yang sesuai untuk pembesaran 30 kali yang dilengkapi dengan mikrometer pengukur dan dikalibrasi pada perbesaran yang digunakan. Selain sumber cahaya biasa, arahkan iluminator dari atas salep dengan sudut  $45^{\circ}$ . Amati partikel logam pada seluruh dasar cawan Petri. Variasikan intensitas iluminator dari atas sehingga memungkinkan partikel logam dapat dikenali dari refleksi karakteristik cahaya.

Hitung jumlah partikel logam yang berukuran  $50 \mu\text{m}$  atau lebih besar pada setiap dimensi: persyaratan dipenuhi jika jumlah partikel dari 10 tube tidak lebih dari 50 partikel dan jika tidak lebih dari 1 tube mengandung 8 partikel. Jika persyaratan tidak dipenuhi, ulangi uji dengan penambahan 20 tube lagi: persyaratan dipenuhi jika jumlah partikel logam yang berukuran  $50 \mu\text{m}$  atau lebih besar pada tiap dimensi dari 30 tube tidak lebih dari 150 partikel dan jika tidak lebih dari 3 tube masing-masing mengandung 8 partikel.

### PENETAPAN pH <1071>

Harga pH adalah harga yang diberikan oleh alat potensiometrik (pH meter) yang sesuai, yang telah dibakukan sebagaimana mestinya, yang mampu mengukur harga pH sampai 0,02 unit pH menggunakan elektrode indikator yang peka, elektroda kaca, dan elektrode pembanding yang sesuai.

Alat harus mampu menunjukkan potensial dari pasangan elektrode dan untuk pembakuan pH menggunakan potensial yang dapat diukur oleh sirkuit dengan menggunakan "pembakuan nol", "asimetri", atau "kalibrasi" dan harus mampu mengontrol perubahan dalam milivolt per perubahan unit pada pembacaan pH melalui kendali "suhu" dan/ atau kemiringan. Pengukuran dilakukan pada suhu  $25^{\circ}\pm 2^{\circ}$ , kecuali dinyatakan lain

dalam masing-masing monografi. Skala pH ditetapkan dengan persamaan sebagai berikut:

$$pH = pH_s + \frac{(E - E_s)}{k}$$

$E$  dan  $E_s$  berturut-turut adalah potensial terukur dengan sel galvanic berisi larutan uji, dinyatakan sebagai pH dan *Larutan dapar untuk pembakuan* yang tepat, dinyatakan sebagai pHs; harga  $k$  adalah perubahan dalam potensial per perubahan unit dalam pH, dan secara teoritis sebesar  $\{0,05916 + 0,000198 (t - 25)\}$  volt pada suhu  $t$ .

Perlu ditekankan disini bahwa definisi pH, skala pH, dan harga yang ditunjukkan oleh *Larutan dapar untuk pembakuan* ditujukan untuk memperoleh sistem operasional yang praktis, sehingga hasil dapat dibandingkan antar laboratorium. Harga pH yang diukur disini tidak persis sama dengan yang diperoleh dengan definisi klasik, bahwa  $pH = - [\log H^+ (\text{dalam air})]$ . Jika pH larutan yang diukur mempunyai komposisi yang cukup mirip dengan larutan dapar yang digunakan untuk pembakuan, pH yang diukur mendekati pH teoritis. Meskipun tidak ditegaskan hubungan pengukuran kesesuaian sistem untuk aktivitas ion hidrogen dalam larutan air.

Jika pH meter dibakukan menggunakan larutan dapar dalam air, kemudian digunakan untuk mengukur "pH" larutan atau suspensi dalam pelarut bukan air, maka tetapan pengionan dari asam atau basa, tetapan dielektrik dari medium, potensial sambungan cairan (yang dapat memberikan kesalahan lebih kurang 1 unit pH), dan respons ion hidrogen dari elektrode kaca, semua akan berubah. Oleh karena itu, harga yang diperoleh dengan larutan yang sifatnya hanya mengandung sebagian air, dapat dianggap hanya sebagai harga pH.

#### Larutan Dapar untuk Pembakuan pH Meter

*Larutan dapar untuk pembakuan* Buat menurut petunjuk sesuai *Tabel*. Simpan dalam wadah tahan bahan kimia, tertutup rapat, sebaiknya dari kaca Tipe I atau botol polietilen dengan tutup rapat atau tabung yang menyerap karbon dioksida (kaca soda). Larutan segar sebaiknya dibuat dengan dengan interval tidak lebih dari 3 bulan menggunakan air bebas karbon dioksida. *Tabel* berikut menunjukkan pH dari larutan dapar sebagai fungsi dari suhu. Petunjuk ini digunakan untuk pembuatan larutan dapar dengan kadar molal sebagaimana disebutkan. Untuk memudahkan, petunjuk diberikan dengan pengenceran hingga volume 1000 ml g pelarut yang merupakan dasar sistem molalitas dari kadar larutan. Jumlah yang disebutkan tidak dapat secara sederhana diperhitungkan tanpa informasi tambahan.

*Kalium tetraoksalat 0,05 m* Larutkan 12,61 g  $KH_3(C_2O_4)_2 \cdot 2H_2O$  dalam air hingga 1000 ml.

*Kalium biftalat 0,05 m* Larutkan 10,12 g  $KHC_8H_4O_4$ , yang telah dikeringkan pada suhu  $110^\circ$  selama 1 jam, dalam air hingga 1000 ml.

*Ekui-molal fosfat 0,05 m* Larutkan 3,53 g  $Na_2HPO_4$  dan 3,39 g  $KH_2PO_4$ , masing-masing telah dikeringkan pada suhu  $120^\circ$  selama 2 jam, dalam air hingga 1000 ml.

*Natrium tetraborat 0,01 m* Larutkan 3,80 g  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$  dalam air hingga 1000 ml. Lindungi dari penyerapan karbon dioksida.

*Kalium hidroksida jenuh pada suhu  $25^\circ$*  Kocok kalium hidroksida P berlebih dengan air dan enap tuangkan pada suhu  $25^\circ$  sebelum digunakan. Lindungi dari penyerapan karbon dioksida.

Karena adanya variasi dalam sifat maupun cara kerja pH meter, tidak praktis untuk memberikan petunjuk yang dapat diterapkan secara umum untuk penetapan pH secara potensiometrik. Prinsip umum yang harus diikuti dalam melakukan petunjuk yang terdapat pada masing-masing alat oleh pabrik yang akan diuraikan pada paragraf berikut. Sebelum digunakan, periksa elektrode, dan jembatan garam jika ada. Jika perlu, isi lagi larutan jembatan garam dan perhatikan petunjuk lain yang diberikan oleh pabrik alat atau pabrik elektrode. Untuk pembakuan pH meter, pilih 2 *Larutan dapar untuk pembakuan* yang mempunyai perbedaan pH tidak lebih dari 4 unit dan sedemikian rupa sehingga pH larutan uji diharapkan terletak diantaranya. Isi sel dengan salah satu *Larutan dapar untuk pembakuan* pada suhu yang larutan ujinya akan diukur. Pasang kendali pada suhu larutan, dan atur kontrol kalibrasi untuk membuat pH identik dengan yang tercantum pada *Tabel*. Bilas elektrode dan sel beberapa kali dengan *Larutan dapar untuk pembakuan* yang kedua, kemudian isi sel dengan larutan tersebut pada suhu yang sama dengan larutan uji. pH dari larutan dapar kedua  $\pm 0,07$  unit pH dari harga yang tertera dalam *Tabel*. Jika penyimpangan terlihat lebih besar, periksa elektrode dan jika terdapat kesalahan, supaya diganti. Atur "kemiringan" atau "suhu" hingga pH sesuai dengan yang tertera dalam *Tabel*. Ulangi pembakuan hingga kedua *Larutan dapar untuk pembakuan* memberikan harga pH tidak lebih 0,02 unit pH dari harga yang tertera dalam *Tabel*, tanpa pengaturan lebih lanjut dari pengendali. Jika sistem telah berfungsi dengan baik, bilas elektrode dan sel beberapa kali dengan larutan uji, isi sel dengan sedikit larutan uji dan baca harga pH. *Gunakan air bebas karbon dioksida P* untuk pelarutan atau pengenceran larutan uji pada penetapan pH. Pada semua pengukuran pH, diperlukan waktu yang cukup untuk mencapai kestabilan. Jika hanya diperlukan harga pH perkiraan dapat digunakan indikator dan kertas indikator.

Untuk pemilihan dapar dan komposisi *Larutan dapar untuk pembakuan* seperti tertera pada uji dan penetapan kadar dalam kompendia (lihat *Larutan dapar pada Pereaksi, indikator dan Larutan*).



**Harga pH Larutan Dapar untuk Pembakuan**

Suhu °C	Kalium tetraoksalat 0,05 m	Kalium biftalat 0,05 m	Ekimolal fosfat 0,05 m	Natrium tetraborat 0,01 m	Kalsium hidroksida jenuh pada suhu 25° C
10	1,67	4,00	6,92	9,33	13,00
15	1,67	4,00	6,90	9,28	12,81
20	1,68	4,00	6,88	9,23	12,63
25	1,68	4,01	6,86	9,18	12,45
30	1,68	4,02	6,85	9,14	12,29
35	1,69	4,02	6,84	9,10	12,13
40	1,69	4,04	6,84	9,07	11,98
45	1,70	4,05	6,83	9,04	11,84
50	1,71	4,06	6,83	9,01	11,71
55	1,72	4,08	6,83	8,99	11,57
60	1,72	4,09	6,84	8,96	11,45

**MIKROSKOPI OPTIK <1076>**

Mikroskopi optik dapat digunakan untuk penetapan sifat partikel, umumnya partikel dengan ukuran 1 µm dan lebih besar. Mikroskopi optik untuk penetapan sifat-sifat partikel dapat digunakan untuk partikel dengan ukuran 1 µm dan lebih besar. Batas kemampuan terendah ditentukan oleh kemampuan pemisahan dari mikroskop untuk menghasilkan gambaran-gambaran terpisah dari benda-benda yang berdekatan. Batas atas kurang terdefinisi dan ditetapkan dengan peningkatan kesulitan penggabungan sifat partikel yang besar. Banyak cara tersedia untuk penetapan sifat-sifat partikel diluar rentang kemampuan mikroskopi optik. Mikroskopi optik khususnya digunakan untuk penetapan partikel yang tidak bulat. Metode ini dapat juga dipakai sebagai dasar untuk kalibrasi yang lebih cepat dan pengembangan metode rutin.

Alat gunakan mikroskop yang stabil dan terlindung dari getaran. Perbesaran mikroskop (untuk perbesaran objek, okuler dan komponen tambahan) harus cukup untuk menetapkan partikel terkecil dalam contoh. Ukuran celah terbesar dari objektif harus dicari untuk tiap rentang perbesaran. Penyaring polarisasi dapat digunakan bersama-sama dengan alat analisa yang sesuai dan lempeng retardasi. Penyaring warna dengan spektra transmisi yang relatif sempit harus digunakan dengan objektif akromatis, lebih baik dengan apokromat, dan dipersyaratkan untuk penafsiran warna yang sesuai pada fotomikrografi. Kondensor mengoreksi sekurang-kurangnya penyimpangan bulat harus digunakan pada meja mikroskop dan dengan lampu. Ukuran celah dari meja kondensor harus sesuai objektif dibawah kondisi penggunaan dan dipengaruhi oleh celah aktual dari diafragma kondensor dan adanya penggunaan minyak imersi. Ketelitian garis sejajar.

**Pengaturan Penting** untuk dilakukan penyelarasan seluruh elemen sistem optik dan pemfokusan (*focusing*) yang sesuai. Fokus bagian yang akan diperiksa sesuai dengan persyaratan yang direkomendasikan oleh pabrik mikroskop. Kesejajaran aksial kritis direkomendasikan.

**Pencahayaannya** Persyaratan pencahayaannya yang baik adalah seragam dan intensitas yang dapat diatur dengan lampu yang di atas bidang pengamatan; lebih baik dengan pencahayaannya Kohler. Dengan partikel berwarna, pilih warna penyaring yang digunakan sehingga dapat mengontrol kontras dan rincian bayangan.

**Karakterisasi visual** Perbesaran dan ukuran celah harus cukup tinggi untuk memungkinkan resolusi bayangan yang cukup sifat dari partikel. Tetapkan perbesaran aktual menggunakan mikrometer yang telah dikalibrasi untuk mengkalibrasi mikrometer okuler. Kesalahan dapat diminimalkan jika perbesaran cukup untuk membentuk bayangan partikel sekurang-kurangnya 10 bagian okuler. Tiap Objektif harus dikalibrasi terpisah. Untuk mengkalibrasi skala okuler, skala mikrometer meja dan skala okuler harus sejajar. Dengan cara ini, dapat dibuat penetapan yang tiap jarak bagian meja okuler. Beberapa perbedaan perbesaran diperlukan untuk menetapkan sifat bahan yang mempunyai distribusi ukuran partikel yang lebar.

**Karakterisasi fotografi** Jika ukuran partikel ditetapkan dengan metode fotografi, hati-hati untuk memastikan objek terfokus tajam pada emulsi fotografi yang datar. Tetapkan perbesaran aktual dengan pemotretan mikrometer meja yang telah dikalibrasi menggunakan film fotografi dengan kecepatan yang cukup, kemampuan alat optik untuk menghasilkan gambaran-gambaran terpisah dari benda-benda yang berdekatan dan kontras. Penyinaran dan proses harus identik untuk contoh dan penetapan perbesaran. Bayangan fotografi dengan ukuran yang jelas dipengaruhi oleh proses penyinaran, pengembangan, dan pencetakan dan oleh kemampuan mikroskop untuk menghasilkan gambaran-gambaran terpisah dari benda-benda yang berdekatan.

**Penyiapan fiksasi** Media fiksasi bervariasi tergantung pada sifat fisik contoh. Kontras antara contoh dan media fiksasi cukup tapi tidak berlebihan, diperlukan untuk memastikan dari tepi contoh. Partikel harus ditempatkan pada satu tempat dan terdispersi secara memadai untuk membedakan partikel individu yang

diinginkan. Selanjutnya, partikel harus mewakili distribusi ukuran dalam bahan dan tidak boleh digantikan selama persiapan fiksasi. Pastikan persyaratan penting ini dipenuhi. Pemilihan media fiksasi harus memperhatikan kelarutan analit.

Karakterisasi sifat hablur - Sifat hablur dari material harus dikarakterisasi untuk menetapkan kesesuaian persyaratan sifat hablur yang dicantumkan pada masing-masing monografi. Jika tidak dinyatakan lain dalam monografi, fiksasi beberapa partikel contoh dalam minyak mineral pada kaca objek bersih. Amati campuran menggunakan mikroskop polarisasi: partikel yang menunjukkan warna pengganggu dan bagian yang tidak terlihat jika perbesaran mikroskop diubah.

**Uji Batas Ukuran Partikel secara Mikroskopi**  
 Timbang sejumlah serbuk untuk ditentukan (misalnya 10 – 100 mg) dan suspensikan ke dalam 10 ml dalam media yang sesuai yang tidak melarutkan zat uji, jika perlu tambahkan bahan pembasah. Suspensi partikel yang homogen dipertahankan dengan mensuspensikan partikel ke dalam media yang sama atau mempunyai densitas yang sesuai dan dengan pengadukan yang cukup. Masukkan sejumlah suspensi homogen ke dalam sel penghitung yang sesuai dan amati di bawah mikroskop pada bidang yang sesuai dengan tidak kurang dari 10 µg serbuk yang diamati. Hitung semua partikel yang mempunyai dimensi maksimum lebih besar dari batas ukuran yang tercantum. Batas ukuran dan jumlah partikel yang melebihi yang masih diperbolehkan ditetapkan untuk masing-masing bahan.

**Karakteristik ukuran partikel** Pengukuran berbagai ukuran partikel dalam kompleksitas tergantung pada bentuk partikel dan jumlah partikel yang dikarakterisasi harus cukup untuk memastikan batas penerimaan ketidaksesuaian pada parameter yang diukur. Informasi tambahan pada pengukuran ukuran partikel, ukuran sampel, dan data analisis tersedia, sebagai contoh dalam ISO 9276. Untuk partikel bulat, ukuran ditetapkan dengan diameter. Untuk partikel tidak beraturan, penetapan ukuran partikelnya bervariasi. Secara umum, untuk partikel yang bentuknya tidak beraturan, karakterisasi ukuran partikel harus mencakup informasi pada tipe juga diameter yang diukur seperti pada partikel bulat. Beberapa pengukuran yang umum digunakan untuk ukuran partikel didefinisikan sebagai berikut (lihat gambar 1)

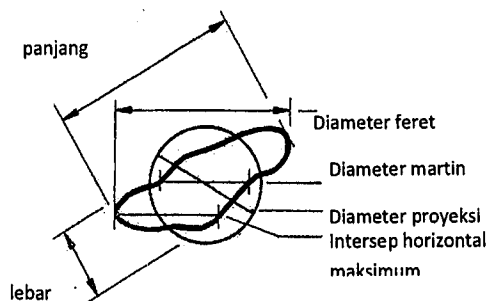
**Diameter Feret** Jarak antara garis sejajar imajiner yang bersinggungan dengan partikel yang tidak beraturan dan tegak lurus pada skala okuler.

**Diameter Martin** Diameter partikel pada titik pembagi partikel yang tidak beraturan menjadi dua daerah proyeksi yang sama.

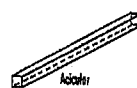
**Diameter daerah Proyeksi** Diameter lingkaran yang mempunyai daerah proyeksi yang sama dengan partikel.

**Panjang** Dimensi terpanjang dari ujung ke ujung partikel yang sejajar dengan skala okuler.

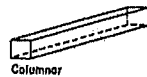
**Lebar** Dimensi terpanjang dari partikel diukur pada sudut siku-siku ke panjang.



**Karakterisasi Bentuk Partikel** Untuk bentuk partikel yang tidak beraturan, karakterisasi ukuran partikel harus mencakup informasi bentuk partikel. Homogenitas serbuk harus diperiksa menggunakan perbesaran yang sesuai. Beberapa definisi berikut umum digunakan untuk menggambarkan bentuk partikel (lihat gambar 2)



**Acicular** – Bentuk silinder, partikel seperti jarum dengan lebar dan ketebalan yang serupa.



**Columnar** (kolom) – Partikel panjang, tipis dengan lebar dan ketebalan yang lebih besar dari partikel *acicular*.



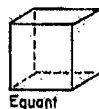
**Flake** (serpih) – Partikel tipis, rata, yang lebar dan panjangnya serupa.



**Plate** (Lempeng) – Partikel rata, dengan panjang dan lebar yang serupa tetapi lebih tebal dari *flake*.



**Lath** (bilah) – Partikel panjang, tipis dan menyerupai pisau.



**Equant** – Partikel yang panjang, lebar dan ketebalannya serupa; termasuk partikel yang berbentuk kubus dan bulat.

**Pengamatan Umum Partikel** secara umum adalah unit terpisah yang paling kecil. Partikel bisa berupa tetesan cairan atau setengah padat; hablur tunggal atau polihablur; amorf, atau agglomerat. Partikel dapat digabungkan. Derajat penggabungan ini dapat dideskripsikan sebagai berikut

**Lamellar**-Tumpukan lempeng

**Aggregate**-massa partikel yang melekat

**Agglomerate**/tumpukan-partikel yang bergabung atau menyatu

**Conglomerate**-Campuran dari dua atau lebih tipe partikel

*Spherulite*-bola-bola kecil-Kelompok partikel berbentuk radial

Kondisi partikel digambarkan sebagai bentuk :

*Drusy*-Partikel yang terbungkus partikel sangat kecil.

*Edges*-Bersudut, bulat, halus tajam, patahan.

*Optikal*-warna (menggunakan penyaring warna yang seimbang), transparan, jernih tidak tembus cahaya.

*Defect*-Penghambatan, pemasukan

Karakteristik permukaan digambarkan sebagai berikut:

*Cracked/ retak*-Terbelah sebagian, patah, atau retak.

*Smooth*-Bebas dari ketidakberaturan, kekasaran atau tonjolan.

*Porous*-Mempunyai lubang atau berongga.

*Rough/kasar*-berlubang-lubang, tidak rata, tidak halus.

*Pitted/ berlubang*-Lekukan kecil.

## PENETAPAN ROTASI OPTIK <1081>

Banyak bahan obat bersifat optik aktif dalam pengertian dapat memutar bidang cahaya terpolarisasi yang datang, sehingga bidang cahaya yang ditransmisi membentuk sudut yang terukur terhadap bidang cahaya datang. Sifat ini khas untuk beberapa hablur dan banyak cairan atau larutan obat. Sifat yang dimiliki oleh cairan atau zat terlarut itu umumnya disebabkan oleh keberadaan satu atau lebih pusat asimetri, biasanya atom karbon dengan empat substituen yang berbeda. Jumlah isomer optik adalah  $2^n$ ;  $n$  adalah jumlah pusat asimetri. Polarimetri, yaitu pengukuran rotasi optik, dari bahan obat merupakan satu-satunya cara yang mudah untuk membedakan isomer-isomer aktif optik, sehingga merupakan penanda yang penting untuk identitas dan kemurnian.

Senyawa yang memperlihatkan kekuatan memutar bidang optik adalah senyawa *khiral*. Senyawa yang memutar bidang cahaya sesuai arah jarum jam dilihat ke arah sumber cahaya, bersifat *dekstrorotatori* atau *isomer optik (+)*. Senyawa yang memutar bidang cahaya berlawanan dengan arah jarum jam disebut *levorotatori* atau *isomer optik (-)*. (Simbol *d-* dan *l-* yang sebelumnya digunakan untuk menunjukkan isomer *dekstrorotatori* dan *levorotatori*, tidak lagi digunakan karena mirip dengan *D-* dan *L-* yang mengacu kepada konfigurasi *D*-gliseraldehida. Simbol *R* dan *S*,  $\alpha$  dan  $\beta$  juga digunakan untuk mengindikasikan konfigurasi, pengaturan atom atau grup atom di dalam ruang).

Sifat fisikokimia dari senyawa-senyawa khiral yang tidak setangkup yang memutar bidang cahaya terpolarisasi ke arah berlawanan dengan besaran yang sama, *enansiomer*, adalah identik, kecuali untuk sifat rotasi optiknya dan reaksinya dengan senyawa khiral lainnya. *Enansiomer* sering menunjukkan perbedaan yang mendalam dalam farmakologi dan toksikologi, sesuai dengan fakta bahwa reseptor biologi dan enzim adalah khiral. Banyak bahan alam, seperti asam amino, protein, alkaloid, antibiotik, glikosida, dan gula berada dalam

bentuk senyawa khiral. Sintesis senyawa tersebut dari senyawa nonkhiral menghasilkan jumlah yang setara yaitu *rasemat*. Rasemat tidak menunjukkan rotasi optik, dan sifat fisiknya berbeda dari sifat enansiomer-enansiomer penyusunnya. Metode sintesis stereoselektif atau stereospesifik atau pemisahan campuran rasemat dapat digunakan untuk mendapatkan isomer optik tunggal.

Pengukuran rotasi optik dilakukan menggunakan polarimeter yang telah dikalibrasi. Persamaan umum yang digunakan dalam polarimetri adalah:

$$[\alpha]_d^t = \frac{100a}{lc}$$

$[\alpha]$  adalah rotasi jenis pada panjang gelombang  $\lambda$ ,  $t$  adalah suhu,  $a$  adalah rotasi yang diamati dalam satuan derajat ( $^\circ$ ),  $l$  adalah panjang tabung polarimeter dalam desimeter, dan  $c$  adalah kadar analit dalam g per 100 ml. Dengan demikian,  $[\alpha]$  adalah nilai pengukuran dikali 100, dalam derajat ( $^\circ$ ), untuk larutan mengandung 1 g per 100 ml, diukur menggunakan sel dengan panjang 1.0 desimeter dibawah kondisi yang ditetapkan pada panjang gelombang cahaya dan suhu tertentu. Untuk beberapa bahan Farmakope, khususnya cairan seperti minyak esensial, persyaratan rotasi optik dinyatakan dalam istilah rotasi yang diamati,  $a$ , ditetapkan dibawah kondisi seperti yang dinyatakan dalam monografi. Rotasi jenis untuk cairan tersebut dapat dihitung sebagai berikut:

$$[\alpha]_d^t = \frac{a}{ld}$$

$d$  adalah bobot jenis cairan pada suhu pengamatan.

Menurut sejarah, polarimetri dilakukan menggunakan instrumen dimana besarnya rotasi optik diperkirakan melalui penyesuaian visual dari intensitas bidang berbelah. Oleh karenanya, paling sering digunakan garis -D lampu natrium pada panjang gelombang cahaya tampak 589 nm. Rotasi jenis yang ditetapkan pada garis-D dinyatakan dengan simbol:

$$[\alpha]_D^{25} \text{ atau } [\alpha]_D^{20}$$

dan banyak data yang tersedia dinyatakan dalam bentuk ini. Penggunaan panjang gelombang yang lebih rendah, seperti pada lampu merkuri yang dipisahkan menggunakan penyaring dengan transmittan maksimum pada kira-kira 578, 546, 436, 405, dan 365 nm dalam polarimeter fotoelektrik, ternyata lebih menguntungkan dalam hal kepekaan sehingga dapat menurunkan kadar senyawa uji. Secara umum, pengamatan rotasi optik pada panjang gelombang 436 nm adalah dua kalinya dan pada 365 nm adalah tiga kalinya dibandingkan pada 589 nm. Pengurangan kadar zat terlarut yang dibutuhkan untuk penetapan kadang-kadang dicapai dengan konversi senyawa itu menjadi senyawa yang rotasi optiknya lebih tinggi secara signifikan. Rotasi optik juga dipengaruhi

pelarut yang digunakan dalam pengukuran, dan hal ini harus ditetapkan.

Sekarang lazim menggunakan sumber cahaya lain seperti xenon atau tungsten halogen, dengan penyaring yang sesuai, karena hal ini akan memberikan keuntungan biaya, umur alat, dan rentang lebar panjang gelombang emisi, dibanding dengan sumber cahaya tradisional.

**Rotasi jenis** Acuan *rotasi jenis* di dalam monografi menyatakan bahwa rotasi jenis dihitung dari rotasi optik hasil pengamatan dalam *Larutan Uji*. Kecuali dinyatakan lain, pengukuran rotasi optik dilakukan pada 589 nm pada 25°. Jika digunakan polarimeter fotoelektrik, maka pengukuran tunggal harus dikoreksi terhadap larutan blanko. Jika digunakan polarimeter visual, harus diambil rata-rata tidak kurang dari lima kali penetapan, dan koreksi pembacaan dilakukan dengan larutan blanko menggunakan tabung yang sama. Pada larutan ataupun cairan uji, suhu harus dipertahankan dalam rentang 0,5° dari nilai yang ditetapkan. Sel untuk larutan uji dan blanko harus sama. Perlakuan pada tiap sel harus dipertahankan sama pada setiap kali pembacaan. Tempatkan sel sedemikian rupa sehingga cahaya melewatinya dengan arah yang sama setiap saat. Kecuali dinyatakan lain, rotasi jenis dihitung terhadap zat yang dikeringkan menurut *Penetapan Susut Pengeringan* seperti tertera pada monografi atau dihitung terhadap zat anhidrat bila dilakukan *Penetapan Kadar Air*.

Rotasi optik dari larutan harus ditentukan dalam waktu 30 menit setelah pembuatan. Dalam hal senyawa diketahui mengalami rasemisasi atau mutarotasi, perhatian harus diberikan untuk membakukan waktu antara penambahan zat terlarut ke dalam pelarut dan penempatan larutan ke dalam tabung polarimeter.

**Sudut rotasi** (*rotation angular*) Acuan sudut rotasi dalam monografi, kecuali dinyatakan lain, adalah rotasi optik dari cairan yang ditetapkan menggunakan tabung 1,0 dm pada 589 nm dan suhu 25°, dan dikoreksi terhadap pembacaan menggunakan tabung kosong dan kering.

#### **PENETAPAN SIFAT HABLUR <1091>**

Pengujian ini digunakan untuk memenuhi persyaratan sifat hablur yang tertera pada masing-masing monografi bahan obat.

*Prosedur* Prosedur uji seperti tertera pada *Mikroskop Optik* <1076>

#### **PENETAPAN SUHU BEKU <1101>**

Suhu pada saat zat cair berubah menjadi padat pada pendinginan merupakan indeks yang berguna untuk kemurnian jika panas dibebaskan pada saat pemadatan, asalkan cemar yang ada hanya terlarut dalam cairan dan tidak dalam padatan. Zat murni memiliki suhu beku yang lebih pasti dan jelas, tetapi campuran zat pada

umumnya membeku pada suatu rentang suhu. Untuk banyak campuran, suhu beku yang ditetapkan dengan metode empirik secara saksama, merupakan indeks kemurnian yang berguna. Metode penetapan suhu beku berikut ini dapat digunakan untuk zat yang melebur antara -20° dan +150°, rentang suhu termometer yang biasa digunakan dalam tangas. Suhu beku adalah titik maksimum (atau bila tidak ada maksimum, titik infleksi) pada kurva suhu-waktu.

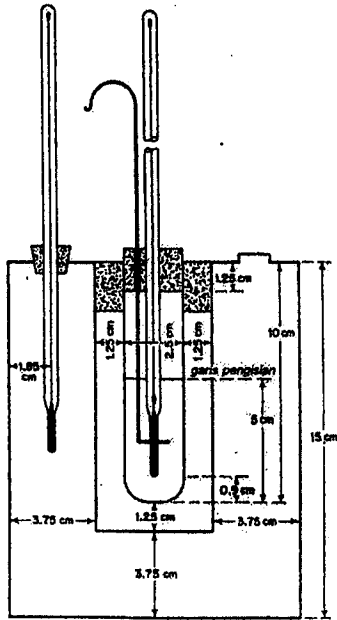
**Alat** Pasang alat seperti pada gambar, wadah untuk zat adalah tabung reaksi 100 mm x 25 mm, dilengkapi dengan termometer yang sesuai dengan rentang suhu pendek yang digantungkan di tengah dan pengaduk kawat dengan panjang sekitar 30 cm, dibengkokkan pada ujung bawah menjadi lingkaran horisontal disekeliling termometer.

Wadah untuk zat disangga dengan gabus dalam tabung silinder yang sesuai dan kedap air dengan diameter dalam lebih kurang 50 mm dan panjang 11 cm. Tabung silinder disangga dalam tangas yang sesuai sedemikian hingga tidak kurang dari lapisan setebal 37 mm disekeliling sisi dan dasar tabung silinder. Tangas luar dilengkapi dengan termometer yang sesuai.

**Prosedur** Gunakan termometer yang mempunyai rentang suhu tidak melebihi 30° dengan pembagian skala 0,1° dan telah dikalibrasi, tetapi tidak digunakan pada pencelupan 76 mm. Satu seri termometer yang sesuai, mencakup rentang suhu dari -20° hingga +150° tersedia sebagai Termometer seri 89C hingga 96C seperti tertera pada *Termometer* <31>. Leburkan zat jika merupakan padatan, pada suhu tidak lebih dari 20° di atas suhu beku yang diperkirakan, dan tuangkan ke dalam tabung reaksi hingga tinggi antara 50 - 57 mm. Pasang alat dengan pencadang raksa termometer dalam tabung uji tercelup setengah antara ujung atas dan dasar zat dalam tabung reaksi. Isi tangas hingga lebih kurang 12 mm dari ujung atas tabung dengan cairan yang sesuai pada suhu 4° - 5° di bawah suhu beku yang diperkirakan.

Untuk senyawa yang berbentuk cair pada suhu kamar, lakukan penetapan menggunakan suhu tangas lebih kurang 15° di bawah suhu beku yang diperkirakan.

Jika zat uji telah didinginkan sampai lebih kurang 5° di atas suhu beku yang diperkirakan, atur tangas hingga suhu 7° - 8° di bawah suhu beku yang diperkirakan. Aduk zat secara sinambung selama sisa waktu penetapan dengan menggerakkan lingkaran kawat pengaduk naik-turun antara bagian atas dan bawah zat uji pada kecepatan tetap 20 putaran sempurna per menit.



Alat Penetapan Suhu Beku

Pembekuan seringkali dapat dirangsang dengan menggosok dinding dalam tabung reaksi dengan termometer, atau dengan memasukkan hablur kecil dari senyawa yang sebelumnya dibekukan. Pendinginan yang berlebihan dapat menyebabkan penyimpangan dari pola normal perubahan suhu. Jika terjadi penyimpangan seperti ini, ulangi penetapan dengan memasukkan partikel kecil zat uji dalam bentuk padat selang 1° pada saat suhu mendekati suhu yang diperkirakan.

Catat pembacaan termometer pada tabung reaksi setiap 30 detik. Lanjutkan pengadukan hanya selama suhu menurun secara teratur, dan hentikan jika suhu menjadi tetap atau mulai sedikit naik. Lanjutkan pencatatan suhu dalam tabung reaksi setiap 30 detik selama tidak kurang 3 menit setelah suhu mulai menurun lagi setelah suhu tetap.

Harga rata-rata dari tidak kurang 4 kali pembacaan berturut-turut yang terletak antara rentang 0,2° merupakan suhu beku. Pembacaan ini terletak pada lebih kurang titik infleksi atau maksimum, pada kurva suhu-waktu, yang terjadi setelah suhu menjadi tetap atau mulai menaik dan sebelum mulai menurun lagi. Harga rata-rata yang mendekati 0,1° adalah suhu beku.

### PENETAPAN SUSUT PEMIJARAN <1111>

Cara ini digunakan untuk penetapan presentase zat uji yang mudah menguap dan hilang pada kondisi yang ditetapkan. Pada umumnya cara ini tidak merusak zat uji, tetapi zat ini dapat diubah menjadi bentuk lain seperti bentuk anhidrat.

Lakukan penetapan terhadap bahan yang diserbuk halus, dan jika perlu gumpalan digerus dengan bantuan lumpang dan alu sebelum ditimbang. Timbang zat uji tanpa perlakuan lebih lanjut kecuali jika pengeringan awal dilakukan pada suhu rendah atau jika ada perlakuan khusus lain, seperti tertera dalam masing-masing

monografi. Kecuali ada peralatan lain yang ditentukan pada masing-masing monografi, lakukan pemijaran dalam tanur atau oven yang sesuai yang mampu mempertahankan suhu lebih kurang 25° dari yang diperlukan untuk penetapan. Gunakan krus yang sesuai, tertutup, yang sebelumnya dipijar selama 1 jam pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang saksama.

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, masukkan ke dalam krus yang telah ditara sejumlah zat uji yang ditimbang saksama dalam g, lebih kurang sama dengan yang dihitung dengan rumus:

$$\frac{10}{L}$$

L adalah batas (atau nilai rata-rata batas) susut pemijaran, dalam presentase. Pijarkan krus berisi zat uji tanpa tutup dan tutup pada suhu tertentu ±25° selama jangka waktu seperti tertera pada masing-masing monografi. Jika dinyatakan pemijaran sampai bobot tetap, pijarkan dalam jangka waktu 1 jam berturut-turut. Pada akhir setiap pemijaran, krus ditutup dan biarkan menjadi dingin dalam desikator sampai suhu ruang sebelum ditimbang.

### PENETAPAN SUSUT PENGERINGAN <1121>

Prosedur ini digunakan untuk penetapan jumlah semua jenis bahan yang mudah menguap dan hilang pada kondisi tertentu. Untuk zat yang diperkirakan mengandung air sebagai satu-satunya bahan mudah menguap, cara yang terdapat pada *Penetapan Kadar Air <1031>* sudah memadai dan dicantumkan dalam masing-masing monografi.

Campur dan timbang saksama zat uji, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, lakukan penetapan menggunakan 1 - 2 g. Apabila zat uji berupa hablur besar, gerus secara cepat hingga ukuran partikel lebih kurang 2 mm. Tara botol timbang dangkal bersumbat kaca yang telah dikeringkan selama 30 menit pada kondisi seperti yang akan digunakan dalam penetapan. Masukkan zat uji ke dalam botol timbang tersebut, dan timbang saksama botol beserta isinya. Perlahan-lahan dengan menggoyang, ratakan zat uji sampai setinggi lebih kurang 5 mm dan dalam hal zat ruahan tidak lebih dari 10 mm. Masukkan ke dalam oven, buka sumbat dan biarkan sumbat ini di dalam oven. Panaskan zat uji pada suhu dan waktu tertentu seperti tertera pada monografi.

[Catatan Suhu yang tercantum dalam monografi haruslah dianggap dalam rentang ±2° dari angka yang tertulis.] Pada waktu oven dibuka, botol segera ditutup dan biarkan dalam desikator sampai suhunya mencapai suhu kamar sebelum ditimbang.

Jika zat uji melebur pada suhu lebih rendah dari suhu yang ditetapkan untuk penetapan *Susut Pengeringan*, biarkan botol beserta isinya selama 1 - 2 jam pada suhu 5° - 10° di bawah suhu lebur, kemudian keringkan pada suhu yang telah ditetapkan.

Jika contoh yang diuji berupa kapsul, gunakan sejumlah campuran isi tidak kurang dari 4 kapsul.

Jika contoh yang diuji berupa tablet, gunakan sejumlah serbuk tablet tidak kurang dari 4 tablet yang diserbukhaluskan.

Jika dalam monografi susut pengeringan ditetapkan dengan analisis termogravimetri, gunakan timbangan analitik yang peka.

Jika dalam monografi ditetapkan pengeringan dalam hampa udara di atas zat pengering, gunakan sebuah desikator vakum atau pistol pengering vakum atau alat pengering vakum lain yang sesuai.

Jika pengeringan dilakukan dalam desikator; lakukan penanganan khusus untuk menjamin zat pengering tetap efektif dengan cara menggantinya sesering mungkin.

Jika dalam monografi ditetapkan pemanasan dalam botol bersumbat kapiler dalam hampa udara, gunakan botol atau tabung dengan sumbat kapiler berdiameter  $225 \pm 25 \mu\text{m}$  dan atur bejana pemanas pada tekanan 5 mmHg atau kurang. Pada akhir pemanasan, biarkan udara kering mengalir ke dalam bejana pemanas, angkat botol bersumbat kapiler, biarkan dingin dalam desikator sebelum ditimbang.

#### PENETAPAN VOLUME INJEKSI DALAM WADAH <1131>

Pilih salah satu atau lebih wadah, bila volume 10 ml atau lebih, 3 wadah atau lebih bila volume lebih dari 3 ml dan kurang dari 10 ml, atau 5 wadah atau lebih bila volume 3 ml atau kurang. Ambil isi tiap wadah dengan alat suntik hipodermik kering berukuran tidak lebih dari tiga kali volume yang akan diukur dan dilengkapi dengan jarum suntik nomor 21, panjang tidak kurang dari 2,5 cm. keluarkan gelembung udara dari dalam jarum dan alat suntik dan pindahkan isi dalam alat suntik, tanpa mengosongkan bagian jarum, ke dalam gelas ukur kering volume tertentu yang telah dibakukan sehingga volume yang diukur memenuhi sekurang-kurangnya 40% volume dari kapasitas tertera (garis-garis penunjuk volume gelas ukur menunjuk volume yang ditampung, bukan yang dituang). Cara lain, isi alat suntik dapat dipindahkan ke dalam gelas piala kering yang telah ditara, volume dalam ml diperoleh dari hasil perhitungan berat dalam g dibagi bobot jenis cairan. Isi dari dua atau tiga wadah 1 ml atau 2 ml dapat digabungkan untuk pengukuran dengan menggunakan jarum suntik kering terpisah untuk mengambil isi tiap wadah. Isi dari wadah 10 ml atau lebih dapat ditentukan dengan membuka wadah, memindahkan isi secara langsung ke dalam gelas ukur atau gelas piala yang telah ditara.

Volume tidak kurang dari volume yang tertera pada wadah bila diuji satu per satu, atau bila wadah volume 1 ml dan 2 ml, tidak kurang dari jumlah volume wadah yang tertera pada etiket bila isi digabung.

Volume tertera dalam penandaan	Kelebihan Volume yang Di-anjurkan	
	Untuk Cairan Encer	Untuk Cairan Kental
0,5 ml	0,10 ml	0,12 ml
1,0 ml	0,10 ml	0,15 ml
2,0 ml	0,15 ml	0,25 ml
5,0 ml	0,30 ml	0,50 ml
10,0 ml	0,50 ml	0,70 ml
20,0 ml	0,60 ml	0,90 ml
30,0 ml	0,80 ml	1,20 ml
50,0 ml atau lebih	2%	3%

Bila dalam wadah dosis ganda berisi beberapa dosis volume tertera, lakukan penentuan seperti di atas dengan sejumlah alat suntik terpisah sejumlah dosis tertera. Volume tiap alat suntik yang diambil tidak kurang dari dosis yang tertera.

Untuk injeksi mengandung minyak, bila perlu hangatkan wadah dan segera kocok baik-baik sebelum memisahkan isi. Dinginkan hingga suhu  $25^\circ$  sebelum pengukuran volume.

#### PENGAYAK DAN DERAJAT HALUS SERBUK <1141>

Pengayak dan derajat halus serbuk dalam Farmakope dinyatakan dalam uraian yang dikaitkan dengan nomor yang ditetapkan untuk pengayak baku, seperti tertera pada *Tabel 1*.

Sebagai pertimbangan praktis, pengayak terutama dimaksudkan untuk pengukuran derajat halus serbuk, untuk sebagian besar keperluan farmasi; walaupun penggunaannya tidak meluas untuk keperluan pengukuran rentang ukuran partikel yang bertujuan meningkatkan penyerapan obat dalam saluran cerna. Untuk pengukuran partikel dengan ukuran nominal kurang dari  $100 \mu\text{m}$ , alat lain selain pengayak mungkin lebih berguna.

Efisiensi dan kecepatan pemisahan partikel oleh pengayak beragam berbanding terbalik dengan jumlah partikel termuat. Efektivitas pemisahan menurun dengan cepat, jika kedalaman muatan melebihi lapisan dari 6 - 8 partikel.

**Pengayak untuk Pengujian secara Farmakope** adalah anyaman kawat, bukan tenunan; kecuali untuk ukuran nomor 230, nomor 270, nomor 325 dan nomor 400, anyaman terbuat dari kuningan, perunggu, baja tahan karat, atau kawat lain yang sesuai, dan tidak dilapisi atau disepuh. *Tabel 2* memberikan ukuran rata-rata lubang pengayak baku anyaman kawat.

#### Serbuk Simplisia Nabati dan Simplisia Hewani

Dalam penetapan derajat halus serbuk simplisia nabati dan simplisia hewani, tidak ada bagian dari obat yang dibuang selama penggilingan atau pengayakan, kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.

**Metode Penetapan Keseragaman Derajat Halus Untuk** penetapan keseragaman derajat halus serbuk obat dan bahan kimia, cara berikut boleh dilakukan, menggunakan pengayak baku yang memenuhi persyaratan tersebut di atas. Hindari penggoyangan lebih lama, yang akan menyebabkan peningkatan derajat halus serbuk selama penetapan.

*Untuk serbuk sangat kasar, kasar dan setengah kasar* Masukkan 25 - 100 g serbuk uji pada pengayak baku yang sesuai, yang mempunyai panci penampung dan tutup yang sesuai. Goyang pengayak dengan arah putaran horizontal dan ketukkan secara vertikal pada permukaan yang keras selama tidak kurang dari 20 menit atau sampai pengayakan praktis sempurna. Timbang saksama jumlah yang tertinggal pada pengayak dan dalam panci penampung.

*Untuk serbuk halus atau sangat halus* Lakukan penepatan seperti pada *serbuk kasar* kecuali contoh tidak lebih dari 25 g dan pengayak yang digunakan digoyang selama tidak kurang dari 30 menit atau sampai pengayakan praktis sempurna.

Untuk serbuk berminyak atau serbuk lain yang cenderung menggumpal dan dapat menyumbat lubang, sikat pengayak secara berkala dengan hati-hati selama penetapan. Hancurkan gumpalan yang terbentuk selama pengayakan. Derajat halus serbuk obat dan bahan kimia dapat juga ditetapkan dengan cara melewatkan pada pengayak yang dapat digoyang secara mekanik yang memberikan gerakan berputar dan ketukan seperti pada pengayak yang menggunakan tangan, tetapi dengan gerakan mekanik yang seragam, mengikuti petunjuk dari pabrik pembuat pengayak.

**Tabel 1**  
**Klasifikasi Serbuk Berdasarkan Derajat Halus**

Klasifikasi Serbuk	Simplisia Nabati dan Simplisia Hewani			Bahan Kimia		
	Nomor Nominal Serbuk	Batas Derajat Halus <sup>2</sup>		Nomor Nominal Serbuk	Batas Derajat Halus <sup>2</sup>	
		%	Nomor Pengayak		%	Nomor Pengayak
Sangat Kasar	8	20	60			
Kasar	20	40	60	20	60	40
Setengah Kasar	40	40	80	40	60	60
Halus	60	40	100	80	60	120
Sangat Halus	80	100	80	120	100	120

Keterangan : 1. Semua partikel serbuk melewati pengayak dengan nomor nominal tertentu.  
2. Batas persentase yang melewati pengayak dengan ukuran yang telah ditentukan.

**Tabel 2 Lubang Pengayak Baku**

Penandaan pengayak	
Nomor nominal pengayak	ukuran lubang pengayak
2	9,5 mm
3,5	5,6 mm
4	4,75 mm
8	2,36 mm
10	2,00 mm
14	1,40 mm
16	1,18 mm
18	1,00 mm
20	850 µm
25	710 µm
30	600 µm
35	500 µm
40	425 µm
45	355 µm
50	300 µm
60	250 µm
70	212 µm
80	180 µm
100	150 µm
120	125 µm
200	75 µm
230	63 µm
270	53 µm
325	45 µm
400	38 µm

**PERMEABILITAS UAP AIR <1151>**

**I. Plester**

Jika plester dinyatakan dapat ditembus uap air, permeabilitasnya tidak kurang dari 500 g per m<sup>2</sup> selama 24 jam bila dilakukan dengan cara sebagai berikut.

*Alat* Kotak terbuat dari bahan yang sesuai, tidak bersifat korosif, dengan ukuran luar lebih kurang 95 mm x 25 mm x 20 mm, bobot kosong tidak lebih dari 60 g, tertutup rapat kecuali pada bagian terbuka yang berbentuk empat persegi panjang dengan ukuran 80 mm x 10 mm pada bagian atas. Kotak tidak tembus air atau uap air, kecuali pada bagian terbuka tadi yang akan ditutup dengan bahan uji.

*Metode* Letakkan nampan berisi lebih kurang 1 kg kalsium klorida anhidrat P pada dasar lemari lembab dan dipanaskan dengan pemanas listrik, dilengkapi dengan alat sirkulasi udara yang efisien dan suhu dipertahankan pada 36° - 38°. Masukkan lebih kurang 2 g kapas ke dalam masing-masing 5 kotak dengan spesifikasi seperti tersebut di atas. Tuangkan lebih kurang 20 ml air ke dalam tiap kotak, tutup bagian terbuka dengan bahan uji yang ditekan ke bawah tanpa diregangkan sehingga bagian terbuka kotak tersegela sempurna. Pastikan bahwa kapas basah tidak menempel pada permukaan bawah bahan uji. Lebar bahan uji paling sedikit 5 mm lebih besar dari ukuran bagian kotak yang terbuka.

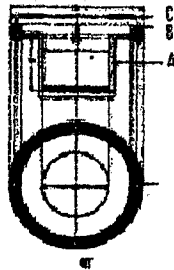
Timbang kotak-kotak yang disegel tersebut sampai skala mg, dan simpan dalam lemari selama 18 jam (dengan simpangan waktu lebih kurang 15 menit). Keluarkan kotak dari dalam lemari, dinginkan dalam atmosfer yang dikondisikan selama 1 jam, timbang kembali hingga skala mg.

Dari bobot yang hilang dan luas tiap bagian terbuka kotak, hitung permeabilitas uap air dalam g per m<sup>2</sup> selama 24 jam.

Hitung hasil rata-rata dari 5 pengujian.

## II. Pembalut Busa

Alat Bejana berbentuk silinder dengan penutup yang terpisah terbuat dari bahan yang sesuai, tidak bersifat korosif dengan ukuran luar sesuai Gambar di bawah, tertutup rapat kecuali pada bagian terbuka berbentuk bulat dengan diameter 40 mm, pada bagian atas. Penutup mempunyai diameter yang sama dihubungkan dengan 4 baut yang terpisah. Cincin karet silikon yang rata dengan tebal antara 2,4 mm sampai 2,6 mm dengan pusat penutup berbentuk bulat dengan diameter 54 mm sampai 56 mm disisipkan antara penutup dan bejana. Bejana sama sekali tidak tembus air atau uap air, kecuali pada bagian terbuka yang akan ditutupi bahan uji.



Alat Penetapan Permeabilitas Uap Air  
ukuran dalam mm

Keterangan gambar:

- A. Tempat penyimpanan air
- B. Cincin karet
- C. Penutup

*Metode* Masukkan lebih kurang 20 ml air ke dalam masing-masing 5 bejana dengan spesifikasi seperti tersebut di atas. Bahan uji berbentuk cakram bulat dengan diameter 54 - 56 mm, letakkan di tengah-tengah permukaan atas bejana. Tempatkan pengikat cincin karet sekelilingnya dan jepit penutup menggunakan 4 buah baut.

Letakkan nampan berisi lebih kurang 1 kg *silika gel P* yang bersifat indikator, yang disebarkan sehingga membentuk lapisan setebal 3 cm, pada dasar lemari pemanas listrik dilengkapi dengan alat sirkulasi udara yang efisien pada suhu yang dipertahankan pada 36° - 38°. Timbang bobot bejana yang disegel tersebut sampai skala mg.

Simpan dalam lemari selama 24 jam. Keluarkan bejana, biarkan dingin dalam atmosfer terkondisi selama

1 jam, timbang kembali hingga skala mg. Dari bobot rata-rata yang hilang dan luas permukaan pembalut busa sebagai penutup, hitung permeabilitas uap air dalam g per m<sup>2</sup> selama 24 jam.

## POLAROGRAFI <1161>

Polarografi adalah suatu metode analisis elektrokimia berdasarkan pengukuran arus listrik hasil elektrolisis suatu larutan pada mikroelektrode yang dapat terpolarisasi, sebagai fungsi tegangan yang digunakan. Polarogram yang diperoleh (lihat Gambar 1) dengan cara pengukuran ini dapat memberikan data kualitatif dan kuantitatif zat-zat yang dapat direduksi atau dioksidasi secara elektrokimia. Kadar normal yang digunakan dalam analisis antara 10<sup>-2</sup> molar dan 10<sup>-5</sup> molar.

Pada polarografi arus searah sebagai mikroelektrode adalah elektrode raksa tetes yang terdiri dari tetes-tetes kecil raksa yang seragam yang terbentuk terus menerus yang mengalir dari ujung sebuah tabung kapiler yang dihubungkan dengan pencadangan raksa. Pada umumnya sebagai elektrode pembanding digunakan elektrode kalomel jenuh dengan permukaan yang luas. Pada waktu tegangan sel dinaikkan, hanya mengalir arus sisa yang sangat kecil hingga saat zat yang ditetapakan kadarnya mengalami reduksi atau oksidasi. Kemudian secara bertahap arus akan bertambah besar, kemudian pertambahannya hampir sebanding dengan naiknya tegangan, dan secara bertahap mencapai suatu harga batas sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 1. Pada saat awal kenaikan dari suatu gelombang polarografi, kenaikan arus aliran menyebabkan penurunan kadar jenis elektroaktif pada permukaan elektrode. Apabila tegangan dan arus meningkat, kadar dari zat yang reaktif berkurang terus sampai mencapai suatu harga minimum pada permukaan elektrode. Besarnya arus kemudian dibatasi oleh laju difusi zat yang bereaksi dari larutan ke permukaan mikroelektrode. Kenaikan arus yang terakhir disebabkan oleh reaksi elektrolit penyangga. Kadar elektrolit yang besar ini bersifat inert dalam rentang daerah tegangan yang digunakan dalam analisis, dan mencegah agar zat yang reaktif tidak mencapai elektrode dengan cara migrasi elektrik, sehingga dapat dipastikan bahwa arus batas diatur oleh difusi.

Oleh karena dalam hal elektrode tetes raksa, permukaan elektrode terus-menerus diperbaharui secara siklik, kuat arus bertambah dari suatu harga yang kecil pada waktu tetesan mulai terbentuk, sampai suatu harga maksimum ketika tetesan tersebut itu jatuh. Dengan menggunakan suatu alat perekam yang sesuai untuk mengukur besarnya arus, diperoleh kurva bergerigi gergaji yang khas. Arus batas merupakan jumlah arus sisa dan arus difusi. Dengan jalan mengurangkan arus batas dengan arus sisa diperoleh tinggi gelombang.

**Persamaan Ilkovic** Hubungan linier antara arus difusi (*i<sub>d</sub>*) dan kadar elektroaktif ditunjukkan oleh persamaan Ilkovic:



$$i_d = 708nD^{1/2} Cm^{2/3}t^{1/6}$$

$i_d$  adalah arus maksimum dalam mikroAmpere;  $n$  adalah jumlah elektron yang diperlukan tiap molekul zat yang elektroaktif;  $D$  adalah koefisien difusi dalam  $\text{cm}^2$  per detik;  $C$  adalah kadar yang dinyatakan dalam milimolar per liter;  $m$  adalah laju aliran raksa dari elektrode tetes raksa dalam mg per detik;  $t$  adalah waktu tetes dalam detik.

Polarograf modern dilengkapi dengan alat perekam yang mampu merekam kuat arus pada bagian akhir tetesan; sehingga, osilasi maksimum adalah ukuran dari kuat arus. Apabila kuat arus diukur hanya pada akhir tetesan, cara ini dinamakan polarografi arus searah dengan pengambilan contoh. Dalam hal ini, hanya arus maksimum yang direkam dan osilasi yang disebabkan oleh pertumbuhan tetesan tidak diamati.

Untuk instrumen yang dilengkapi dengan galvanometer sebagai pengukur arus atau perekam dengan mode peredam, gelombang bergerigi gergaji sebanding dengan osilasi di sekitar arus rata-rata. Dalam hal yang terakhir ini, rata-rata osilasi menyatakan kuatnya arus. Untuk polarogram yang diperoleh dengan cara ini,  $i_d$  dalam persamaan Ilkovic merupakan arus rata-rata dalam mikroAmpere yang diamati selama terbentuknya tetesan, jika koefisien 708 diganti dengan 607.

**Pengaturan Arus Difusi** Persamaan Ilkovic menunjukkan variabel-variabel yang harus diatur agar arus difusi berbanding lurus dengan kadar zat yang elektroaktif. Pada suhu  $25^\circ$  koefisien difusi larutan ion dan molekul organik dalam air akan naik 1% sampai 2% untuk setiap derajat kenaikan suhu, sehingga suhu sel polarograf harus dipertahankan dalam batas lebih kurang  $0,5^\circ$ . Jumlah  $m$  dan  $t$  tergantung ukuran kapiler dan tinggi kolom raksa di atas elektrode. Meskipun hasil yang diperoleh dengan menggunakan kapiler yang berbeda dapat dibandingkan, jika harga  $m^{2/3}t^{1/6}$  diketahui, sebaiknya digunakan kapiler yang sama yang memberikan tetes raksa yang konstan untuk satu seri penetapan. Arus difusi sebanding dengan akar pangkat dua dari tinggi kolom raksa. Pencadangan raksa dengan diameter lebih dari 4 cm dapat mencegah penurunan permukaan raksa yang bermakna pada waktu melakukan satu seri penetapan.

Kapiler yang dipergunakan untuk elektrode raksa tetes berdiameter - dalam lebih kurang 0,04 mm dan panjangnya 6 - 15 cm. Tinggi kolom raksa, diukur dari ujung kapiler sampai ke permukaan raksa dalam pencadangan, berkisar antara 40 cm sampai 80 cm. Panjang yang tepat dari kapiler dan tinggi kolom raksa disesuaikan agar memberikan waktu tetes antara 3 - 5 detik pada keadaan sirkuit terbuka dengan kapiler tercelup dalam larutan uji.

Dikenal juga alat yang dapat mengatur waktu tetes, mulai kurang dari satu detik hingga beberapa detik. Oleh karena rincian dalam suatu polarogram terkait dengan jumlah tetesan yang terbentuk selama terjadinya perubahan potensial tertentu, waktu tetesan yang

sedemikian singkat itu memungkinkan perekaman polarogram secara lebih cepat.

Arus yang mengalir melalui larutan uji selama perekaman polarogram adalah dalam batas mikroAmpere. Jadi aliran arus menghasilkan perubahan kadar dalam larutan yang dapat diabaikan dan beberapa polarogram dapat dibuat dengan larutan uji yang sama, tanpa menunjukkan perbedaan yang berarti.

**Potensial Gelombang-paruh** Potensial gelombang-paruh ( $E_{1/2}$ ) terdapat pada titik tengah antara arus sisa dan dataran arus batas. Potensial ini merupakan ciri khas dari zat elektroaktif dan tidak tergantung pada kadar atau kapiler yang digunakan untuk memperoleh gelombang tersebut. Potensial ini tergantung dari komposisi larutan dan dapat berubah jika pH berubah atau sistem pelarut atau ada penambahan zat pembentuk kompleks. Jadi potensial gelombang paruh merupakan kriteria untuk identifikasi kualitatif suatu zat.

Potensial elektrode tetes raksa sama dengan tegangan yang digunakan diukur terhadap elektrode pembanding, setelah dikoreksi dengan selisih tegangan  $iR$  (potensial yang diperlukan untuk mengalirkan arus  $i$  melalui larutan dengan tahanan  $R$ ). Untuk larutan bebas air yang umumnya mempunyai tahanan yang tinggi, koreksi ini menjadi penting sekali, jika diperlukan potensial yang tepat bagi elektrode tetes raksa. Dalam analisis kuantitatif tidak diperlukan koreksi potensial gelombang-paruh. Kecuali dinyatakan lain, pengukuran potensial dilakukan terhadap elektrode kalomel jenuh.

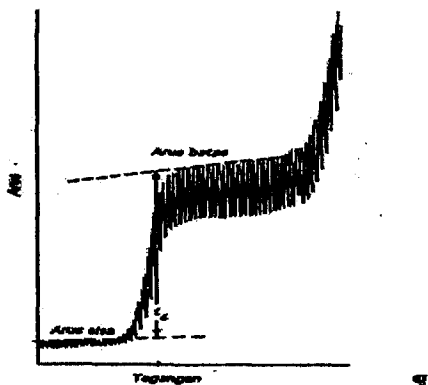
**Menghilangkan Oksigen Terlarut** Pada elektrode tetes raksa, oksigen tereduksi dalam dua tingkat, mula-mula terjadi hidrogen peroksida kemudian terjadi air. Jika polarogram dibuat pada daerah potensial yang lebih negatif dari lebih kurang 0 volt terhadap elektrode kalomel jenuh, oksigen harus dihilangkan dari larutan zat yang harus diuji. Oksigen dapat dihilangkan dengan mengalirkan gas nitrogen bebas oksigen ke dalam larutan selama 10 menit sampai 15 menit tepat sebelum perekaman gelombang. Untuk mencegah penguapan pelarut, sebelum dialirkan ke dalam larutan uji, nitrogen dialirkan lebih dulu ke dalam sebagian larutan uji yang telah dipisahkan.

Selama perekaman polarogram, larutan harus tenang dan tidak ada getaran, agar dapat dipastikan bahwa arus yang mengalir disebabkan oleh difusi. Oleh karena itu, nitrogen tidak lagi dialirkan ke dalam larutan, melainkan diarahkan ke atas permukaan larutan, sebelum perekaman polarogram.

Dalam media yang alkalis, dapat ditambahkan *natrium bisulfit P* untuk menghilangkan oksigen, asalkan pereaksi tersebut tidak bereaksi dengan komponen sistem lainnya.

**Pengukuran Tinggi Gelombang** Bila polarogram digunakan untuk analisis kuantitatif, perlu dilakukan pengukuran tinggi gelombang. Oleh karena merupakan ukuran bagi besarnya arus difusi, tinggi gelombang diukur secara vertikal. Untuk mengurangkan arus sisa, bagian kurva yang mendahului gelombang

diekstrapolasikan hingga melampaui bagian menaik dari gelombang. Untuk gelombang yang baik bentuknya, garis ekstrapolasi sejajar dengan dataran arus batas dan pengukuran dapat dilakukan dengan pasti. Untuk gelombang yang kurang baik bentuknya, dapat digunakan prosedur berikut ini, kecuali dinyatakan lain dalam monografi. Arus sisa dan arus batas kedua-duanya diekstrapolasikan dengan garis lurus seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Sebagai tinggi gelombang diambil jarak vertikal antara kedua garis tersebut yang diukur pada potensial gelombang-paruh.

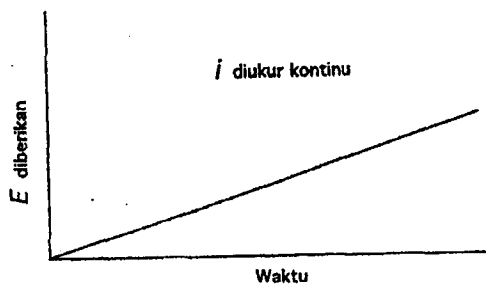


Gambar 1 Polarogram yang menunjukkan perubahan aliran arus dengan meningkatnya potensial yang digunakan terhadap elektrode tetes raksa

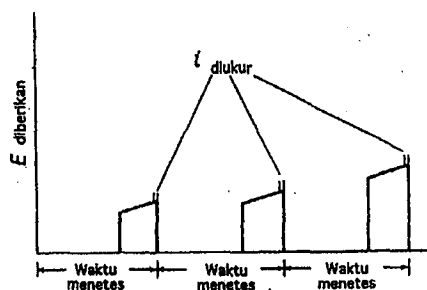
**Prosedur** [Perhatian Uap raksa sangat beracun, dan logam raksa mempunyai tekanan uap yang nyata pada suhu kamar. Ruang kerja harus dibuat sedemikian rupa hingga setiap tumpahan atau ceceran tetes raksa dapat dibersihkan dengan sempurna secara mudah. Bersihkan sehabis pemakaian setiap alat dengan saksama. Upayakan agar ruang kerja mendapat ventilasi yang secukupnya dan bersihkan hati-hati raksa yang tertumpah.] Sejumlah volume enceran terakhir zat yang ditetapkan kadarnya dipindahkan ke dalam sel polarografi yang dicelup dalam tangas air bersuhu  $25^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ . Alirkan nitrogen P ke dalam larutan selama 10 - 15 menit untuk menghilangkan oksigen yang terlarut. Biarkan raksa mulai menetes dari kapiler, celupkan kapiler ke dalam larutan uji dan atur tinggi pencadangan raksa. Pindahkan aliran nitrogen ke atas permukaan larutan, dan rekam polarogram pada daerah potensial yang dinyatakan pada masing-masing monografi, menggunakan alat perekam atau galvanometer yang peka untuk mendapatkan gelombang yang sesuai. Ukur tinggi gelombang, kecuali dinyatakan lain dalam monografi, bandingkan dengan tinggi gelombang yang diperoleh dengan *Baku Pembanding FI* yang diukur pada kondisi yang sama.

**Polarografi Pulsa** Pada polarografi arus searah yang konvensional arus diukur secara terus menerus selama pemberian tegangan yang bertambah tinggi secara linier (lihat Gambar 2). Arus ini terdiri atas dua unsur. Unsur pertama, arus difusi (Faraday), dihasilkan oleh zat yang mengalami reduksi atau oksidasi pada elektrode kerja, dan berbanding lurus dengan kadar zat tersebut. Unsur kedua, merupakan arus kapasitatif (pemberian muatan

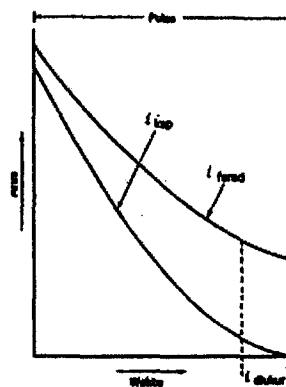
pada lapisan ganda elektrokimia). Perubahan dalam arus tersebut selama perubahan ukuran tetes raksa menghasilkan osilasi dalam polarogram arus searah yang khas.



Gambar 2 Polarografi Arus Searah



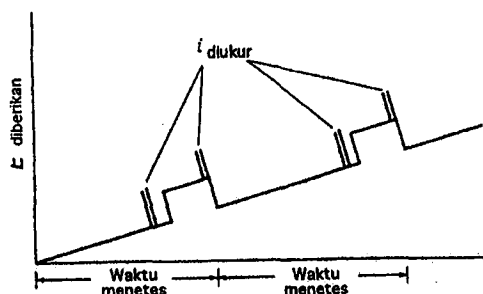
Gambar 3 Polarografi Pulsa



Gambar 4 Kurva Arus terhadap Waktu (Polarografi Pulsa).

Pada polarografi pulsa normal, diberikan pulsa tegangan pada elektrode raksa mendekati jatuhnya tetesan, dengan mempertahankan tetesan pada tegangan awal selama periode pertumbuhannya (lihat Gambar 3). Tiap tetesan berikutnya diberi pulsa yang sedikit lebih tinggi, dengan memilih laju penambahan yang dikehendaki. Kuat arus diukur pada akhir pulsa, pada waktu arus kapasitatif mendekati nol, sehingga pada dasarnya arus Faradaylah yang terukur (lihat Gambar 4). Dapat ditambahkan, karena pemberian pulsa hanya untuk waktu yang pendek, pengosongan lapisan difusi tidaklah sejauh pada polarografi arus searah dan diperoleh kuat arus yang lebih besar untuk kadar yang setara. Kadar sampai  $10^{-6}$  M dapat diukur, berarti peningkatan

sensitivitas 10 kali dibandingkan dengan polarografi arus searah. Harga arus batas pun lebih mudah diukur, karena gelombangnya bebas dari osilasi.



Gambar 5 Polarografi Pulsa Diferensial

Polarografi pulsa diferensial merupakan suatu teknik, yang memberikan pulsa yang tetap tingginya menjelang tetesan jatuh, bertumpu di atas tegangan searah yang bertambah secara linier (lihat Gambar 5). Kuat arus diukur tepat pada saat sebelum pemberian pulsa dan sekali lagi pada akhir pulsa. Selisih kedua arus tersebut diukur dan disampaikan pada alat perekam. Sinyal diferensial semacam itu menghasilkan kurva yang merupakan pendekatan bagi turunan suatu gelombang polarografi serta memberikan suatu puncak. Potensial puncak besarnya setara dengan:

$$E_{1/2} = \frac{\Delta E}{2}$$

$\Delta E$  adalah tinggi pulsa. Tinggi puncak berbanding lurus dengan kadar pada laju pertambahan tegangan yang konstan dan tinggi pulsa konstan. Teknik ini sangat peka (tingkat kadar  $10^{-7}$  M dapat diukur) serta memungkinkan resolusi yang lebih baik di antara gelombang-gelombang yang berdekatan.

**Voltametri Striping Anode** Voltametri Striping Anode merupakan suatu teknik elektrokimia, yang mengkonsentrasikan (mereduksi) jumlah sesepora zat dalam larutan pada suatu elektrode dan kemudian dioksidasikan kembali ke dalam larutan dengan pemberian tegangan pada anode. Pengukuran kuat arus yang mengalir sebagai fungsi tegangan serta laju perubahan tegangan memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif pada zat-zat semacam itu. Tahap pemekatan itu memungkinkan analisis pada tingkat kadar  $10^{-7}$  -  $10^{-9}$  M.

Peralatan dasar mencakup generator peningkat tegangan; sirkuit pengukur arus; sebuah sel dengan elektrode kerja, elektrode pembanding dan elektrode berlawanan; dan sebuah alat perekam atau alat pembaca lainnya. Peralatan dengan kemampuan polarografi arus searah atau pulsa, cukup memadai untuk aplikasi striping. Elektrode kerja yang biasa digunakan adalah elektrode tetes raksa gantung, sekalipun elektrode lapisan tipis raksa dapat dipakai. Untuk analisis logam misalnya perak, platina dan emas, yang potensial oksidasinya lebih

positif daripada raksa, serta raksa sendiri, perlu digunakan elektrode padat seperti platina, emas atau karbon. Sebagai elektrode pembanding digunakan elektrode kalomel jenuh atau elektrode perak-perak klorida, kecuali untuk analisis raksa atau perak. Sebagai elektrode berlawanan biasa digunakan kawat platina.

Zat uji yang mengandung elektrolit yang sesuai dipipet ke dalam sel. Oksigen terlarut dihilangkan dengan mengalirkan nitrogen melalui sel selama 5 - 10 menit.

Pada umumnya, digunakan tegangan elektrolisis setara dengan 200 mV sampai 300 mV lebih negatif dari pada potensial gelombang paruh zat uji (sekalipun potensial ini harus ditentukan secara eksperimen), dengan pengadukan selama 1 - 10 menit. Agar diperoleh keberulangan hasil yang baik, kondisi yang konstan perlu dipertahankan (waktu deposisi, laju pengadukan, suhu, volume zat uji, dan ukuran tetes, jika digunakan elektrode tetes raksa gantung).

Sesudah deposisi, pengadukan dihentikan, larutan dan elektrode dibiarkan setimbang untuk waktu yang pendek. Kemudian dilakukan perubahan potensial anode secara cepat (10 mV/detik atau lebih besar pada polarografi arus searah dan 5 mV/detik pada polarografi pulsa diferensial). Seperti halnya pada polarografi, kuat arus batas sebanding dengan kadar zat (tinggi gelombang pada polarografi arus searah dan pulsa; tinggi puncak pada polarografi pulsa diferensial), sedangkan potensial gelombang-paruh (polarografi arus searah, pulsa) atau potensial puncak (polarografi pulsa diferensial) menyatakan identitas zat. Pemilihan elektrolit penyangga perlu dilakukan secara hati-hati agar supaya diperoleh hasil yang memuaskan. Analisis kuantitatif biasanya dapat dilakukan dengan metode tambahan baku atau metode kalibrasi.

Teknik ini sesuai untuk analisis sesepora logam runtuhan, akan tetapi terbatas penggunaannya untuk penentuan zat organik, oleh karena banyak reaksinya tidak reversibel. Pada analisis zat seperti klorida, dapat digunakan voltametri striping katode. Teknik ini sama dengan voltametri striping anode, kecuali bahwa bahan tersebut dideposisikan pada anode, kemudian dilakukan striping dengan jalan memberikan perubahan tegangan yang cepat pada katode.

## RADIOAKTIVITAS <1171>

Radiofarmaka perlu penanganan dan pengujian khusus agar diperoleh hasil yang benar, dan bahaya terhadap personil sekecil mungkin. Semua pengerjaan harus dilaksanakan oleh atau dibawah pengawasan personil yang terlatih dan mempunyai pengetahuan dalam penanganan zat radioaktif.

Fasilitas untuk produksi, penggunaan serta penyimpanan radiofarmaka secara umum harus mengikuti perizinan yang dikeluarkan oleh Badan Atom Nasional (BATAN), yang pelaksanaan pengawasannya didelegasikan kepada Biro Pengawasan Tenaga Atom (BPTA).

Selain harus mengikuti peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan, setiap produsen dan pemakai harus memiliki izin dari BATAN dan mengikuti semua peraturan mengenai pengangkutan maupun pemakaian radioaktif.

Definisi, pertimbangan khusus dan prosedur yang berkaitan dengan monografi untuk sediaan yang bersifat radioaktif dibahas dalam bab ini.

### PERTIMBANGAN UMUM Hukum Dasar Peluruhan

Peluruhan zat radioaktif dinyatakan dengan rumus:

$$N_t = N_0 e^{-\lambda t}$$

$N_t$  adalah jumlah atom zat radioaktif setelah waktu  $t$ ;  $N_0$  adalah jumlah atom radioaktif pada  $t = 0$  dan  $\lambda$  adalah tetapan peluruhan atau transformasi, yang nilainya tertentu untuk setiap jenis radionuklida. Waktu paruh ( $T_{1/2}$ ) adalah waktu yang diperlukan oleh radioaktif tertentu untuk meluruh sehingga radioaktivitasnya tinggal separuh dari nilai radioaktivitas awal. Hubungan antara  $T_{1/2}$  dengan tetapan peluruhan dinyatakan dengan persamaan:

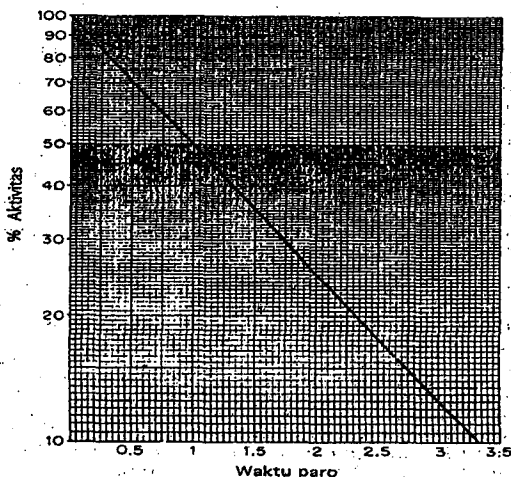
$$T_{1/2} = \frac{0,69315}{\lambda}$$

Aktivitas suatu radioaktif ( $A$ ) sebanding dengan jumlah atom zat radioaktif tersebut, dinyatakan dengan persamaan:

$$A = \lambda N$$

Jumlah atom zat radioaktif pada waktu  $t$  dapat dihitung, sehingga jumlah massa zat radioaktif dapat ditentukan.

Aktivitas suatu zat radioaktif murni sebagai fungsi waktu dapat diperoleh dari persamaan eksponensial atau dari tabel peluruhan, atau dari grafik peluruhan (*Gambar 1*) yang didasarkan pada waktu paruh.



Gambar 1 Grafik peluruhan zat radioaktif

Aktivitas suatu zat radioaktif dinyatakan sebagai jumlah transformasi nuklir per satuan waktu. Satuan dasar radioaktivitas, curie (Ci), didefinisikan sebagai  $3,700 \times 10^{10}$  transformasi nuklir per detik. Millicurie (mCi) dan mikrocurie ( $\mu$ Ci) merupakan satuan yang sering digunakan. Jumlah transformasi nuklir per satuan waktu adalah jumlah laju peluruhan dari semua tipe disintegrasi radionuklida induk. Sebelum aktivitas radionuklida suatu zat yang diukur dinyatakan dalam Curie, perlu diketahui kelimpahan emisi radiasi yang diukur.

### Geometri

Validitas kalibrasi relatif dan pengukuran radionuklida tergantung pada keberulangan dari hubungan sumber radioaktif terhadap detektor dan keadaan sekelilingnya. Harus dibuat pendukung yang sesuai untuk konfigurasi sumber.

### Latar Belakang

Sinar kosmik, radioaktivitas sisa yang ada pada detektor dan bahan pelindung, serta radiasi dari sumber radioaktif di sekitar alat pengukur yang tidak cukup terlindung, semua ini dapat memberikan kontribusi pada laju cacahan latar belakang. Semua pengukuran radioaktivitas harus dilakukan koreksi dengan cara mengurangi laju cacahan cuplikan zat radioaktif dengan laju cacahan latar belakang.

### Statistik Pencacahan

Pada proses peluruhan radioaktif berlangsung secara acak, maka kejadian yg dicacah merupakan urutan acak dalam waktu. Oleh karena itu, pencacahan dalam waktu yang terbatas hanya menghasilkan perkiraan terhadap laju cacahan yang sebenarnya. Ketelitian perkiraan ini, berkaitan dengan fluktuasi statistik, tergantung pada jumlah cacahan yang terkumpul pada suatu pengukuran dan dapat dinyatakan dengan simpangan baku ( $\sigma$ ). Perkiraan untuk  $\sigma$  adalah  $\sqrt{n}$ ;  $n$  adalah jumlah cacahan yang terkumpul pada suatu pengukuran. Kemungkinan suatu pengukuran tunggal terletak antara  $\pm 100/\sqrt{n}\%$  dari rata-rata sejumlah besar pengukuran adalah 0,68. Berarti bila dilakukan banyak pengukuran pada cuplikan  $n$  cacahan, maka sekitar 2/3 dari pengamatan akan terletak pada antara  $100/\sqrt{n}\%$  dari nilai rata-rata cacahan dan sisanya terletak di luar rentang tersebut.

Karena sifat acak dari peluruhan radioaktif, maka pengulangan pencacahan suatu sumber radioaktif dengan geometri yang tetap pada alat pencacah akan menghasilkan nilai laju cacahan yang mengikuti frekuensi distribusi normal. Penyimpangan nilai dari distribusi normal memenuhi uji  $\chi^2$ . Oleh karena itu uji  $\chi^2$  sering digunakan untuk menentukan keandalan dan kebenaran operasi suatu sistem alat pencacah. Pada pemilihan alat dan kondisi untuk menetapkan sumber radioaktif nilai  $e^2/B$  harus maksimum ( $e$  = efisiensi pencacahan = laju cacahan yang diamati/laju peluruhan dan  $B$  = laju cacahan latar belakang).

### Kehilangan Pencacahan

Interval waktu minimum yang diperlukan alat pencacah untuk memisahkan 2 pulsa sinyal yang berturut-turut dinamakan waktu mati. Waktu mati ini berbeda-beda dari orde mikrodetik untuk pencacahan sintilasi, dan proporsional ratusan mikrodetik untuk pencacah "Geiger Müller". Sinyal nuklir yang terjadi dalam waktu mati pencacah tidak akan tercatat. Untuk memperoleh laju cacahan yang terkoreksi,  $R$ , dari laju cacahan yang diamati,  $r$ , dengan rumus:

$$R = \frac{r}{1 - r\tau}$$

$\tau$  adalah waktu mati. Koreksi selanjutnya menunjukkan waktu mati yang tidak berlanjut. Jadi untuk validitas nilai  $r\tau$  tidak boleh melebihi 0,1. Laju cacahan yang diamati;  $r$  dalam rumus ini tidak perlu dikurangi dengan laju cacahan latar belakang.

### Baku Kalibrasi

Lakukan semua penetapan radioaktivitas menggunakan sistem pengukuran yang terkalibrasi dengan baku radioaktif yang telah disertifikasi dengan benar. Baku kalibrasi tersebut dapat dibeli langsung dari Badan Tenaga Atom Nasional atau dari sumber lain melalui keikutsertaan dalam program pengukuran kolaborasi.

### Pembawa

Jumlah massa atom atau molekul radioaktif untuk sumber radioaktif tertentu, berbanding langsung dengan radioaktivitas radionuklida yang bersangkutan dan waktu paruhnya, dan jumlah yang ada dalam radiofarmaka umumnya terlalu kecil untuk diukur dengan cara kimia atau fisika biasa. Misalnya, massa  $^{131}\text{I}$  mempunyai 100 mCi adalah  $8 \times 10^{-7}\text{g}$ . karena jumlah zat sekecil itu mempunyai sifat menyimpang secara kimia, maka biasanya ditambahkan zat pembawa dalam bentuk isotop non radioaktif nuklida yang sama selama proses, agar mudah ditangani. Dalam banyak hal, adsorpsi dapat dihindari dengan penambahan kadar ion hidrogen dalam larutan. Jumlah zat yang ditambahkan tersebut sedemikian kecil, agar tidak terjadi efek fisiologis. Istilah bebas zat pembawa hanya untuk sediaan radioaktif yang tidak mengandung isotop non radioaktif dari radionuklida yang bersangkutan. Ini berarti bahwa radiofarmaka yang dibuat melalui reaksi ( $n,\gamma$ ) dianggap tidak "bebas zat pembawa".

Kadar radioaktif adalah radioaktivitas per satuan volume atau per satuan bobot media atau pembawa yang mengandung zat radioaktif, baik bersifat bebas zat pembawa maupun yang mengandung zat pembawa. Sedangkan aktifitas jenis digunakan untuk menyatakan radioaktivitas radionuklida per gram unsurnya.

### Kemurnian Radiokimia

Kemurnian radiokimia suatu sediaan radiofarmaka menunjukkan fraksi radionuklida yang berada dalam bentuk kimia yang dimaksud. Cemaran radiokimia dalam sediaan radiofarmaka dapat disebabkan oleh adanya penguraian dan berasal dari prosedur pembuatan yang tidak benar. Radiasi dapat menyebabkan penguraian air, yaitu komponen utama sediaan radiofarmaka, yang menghasilkan atom hidrogen reaktif dan radikal hidroksil, elektron terhidrasi, hidrogen, ion hidrogen dan hidrogen peroksida yang reaktif. Hidrogen peroksida reaktif terbentuk karena adanya radikal oksigen yang dihasilkan dari peruraian radiolisis dari oksigen terlarut. Stabilitas sediaan radioaktif umumnya meningkat bila oksigen dihilangkan. Radiasi juga dapat mempengaruhi sediaan radiofarmaka itu sendiri, membentuk ion, radikal dan keadaan tereksitasi. Zat ini dapat bereaksi satu sama lain dan atau dengan spesi aktif yang terbentuk dari air. Penguraian akibat radiasi dapat dikurangi dengan menggunakan bahan kimia yang dapat bertindak sebagai penangkap elektron atau radikal. Elektron yang terperangkap dalam padatan menyebabkan hilangnya warna akibat terbentuknya pusat dan menjadi gelapnya wadah kaca radiofarmaka merupakan suatu hal yang spesifik.

Kemurnian radiokimia sediaan radiofarmaka dapat ditentukan dengan kromatografi kolom, kertas dan lapis tipis atau dengan teknik pemisahan analisis lain yang sesuai, seperti tertera pada masing-masing monografi.

### Kemurnian Radionuklida

Kemurnian radionuklida sediaan radiofarmaka menunjukkan fraksi radioaktivitas yang berasal dari radionuklida yang dimaksud dalam radioaktivitas total yang diukur. Kemurnian radionuklida ini penting dalam perkiraan dosis radiasi yang diterima oleh pasien bila sediaan tersebut diberikan. Cemaran radionuklida dapat berasal dari cemaran yang ada pada sasaran, perbedaan penampang lintang, nilai berbagai kompetisi produksi dan fungsi eksitasi pada energi partikel penembak pada waktu produksi.

### Definisi dan Istilah

*Tanggal pembuatan* adalah tanggal selesainya proses produksi.

*Tanggal penetapan* adalah tanggal (dan waktu, jika perlu) yang sesungguhnya saat pengukuran radioaktivitas dilakukan.

*Tanggal kalibrasi* adalah tanggal dan waktu yang ditetapkan, yang merupakan awal perhitungan radioaktivitas untuk memudahkan pengguna.

*Tanggal kedaluarsa* adalah tanggal yang ditetapkan sebagai batas waktu penggunaan produk. Rentang kedaluarsa (adalah rentang waktu antara tanggal pembuatan dan tanggal kedaluarsa), didasarkan pada sifat radioaktivitas produk dan hasil penelitian kestabilan bentuk produk akhir.

## Penandaan

Penandaan pada masing-masing monografi radiofarmaka mencantumkan: Tanggal kedaluarsa, tanggal kalibrasi dan pernyataan "Awas Bahan Radioaktif". Etiket memberi petunjuk bahwa dalam perhitungan dosis perlu dilakukan koreksi terhadap peluruhan radioaktif dari waktu paruh radionuklida. Untuk larutan injeksi harus memenuhi persyaratan *Penandaan* dalam *Injeksi*, dan untuk produk hayati selain harus memenuhi persyaratan *Penandaan* dalam *Injeksi*, etiket pada wadah akhir untuk setiap produk biologik mencantumkan: judul atau nama sebenarnya (nama produk yang diizinkan oleh peraturan yang berlaku); nama, alamat, dan nomor izin produsen; nomor lot; tanggal kedaluarsa; dan dosis individual yang dianjurkan untuk wadah dengan dosis - ganda. Etiket kemasan mencantumkan seluruh keterangan diatas, dengan menambahkan: pengawet yang digunakan dan jumlahnya; jumlah wadah, bila lebih dari 1; jumlah produk di dalam wadah; suhu penyimpanan yang dianjurkan; bila perlu, pernyataan bahan pembekuan harus dihindari; dan keterangan lain yang sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

## IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR RADIONUKLIDA

### Peralatan

#### BEJANA PENGION

**Bejana Pengion** adalah suatu alat dengan medan listrik melalui sejumlah volume gas yang dimaksudkan untuk mengumpulkan ion-ion yang dihasilkan oleh medan radiasi. Ion positif dan elektron negatif bergerak sepanjang garis gaya medan listrik dan dikumpulkan pada elektrode dan kemudian menghasilkan suatu arus ionisasi. Dalam bejana pengion bentuk sumur yang didesain dengan baik, arus ionisasi tidak boleh terlalu bergantung pada letak zat radioaktif, dan nilai arus per satuan aktivitas, yang disebut faktor kalibrasi, adalah khas untuk setiap radionuklida yang memancarkan sinar gamma.

Arus ionisasi yang dihasilkan dalam bejana pengion berkaitan dengan energi rata-rata radiasi yang dipancarkan dan sebanding dengan intensitas radiasi. Bila sumber baku dengan laju peluruhan diketahui, digunakan untuk kalibrasi efisiensi, maka bejana pengion kemudian dapat digunakan untuk penetapan aktivitas antara beberapa mikrocurie sampai ratusan millicurie atau lebih. Batas atas aktivitas yang dapat diukur dalam bejana pengion biasanya tidak jelas dan dapat dibatasi oleh pertimbangan kejenuhan, rentang amplifier, dan desain bejana pengion sendiri. Data yang menyertai suatu alat tertentu, harus dikaji ulang untuk meyakinkan rentang energi dan intensitas yang dapat digunakan dengan baik pada alat tersebut.

Keberulangan sekitar 5% atau kurang dapat diperoleh dalam waktu lebih kurang 10 detik, bila digunakan bejana pengion bentuk sumur. Alat pengukur

radioaktivitas sediaan radiofarmaka yang menggunakan bejana pengion bentuk sumur dikenal dengan nama kalibrator dosis, yang paling banyak digunakan.

Walaupun faktor kalibrasi untuk setiap radionuklida dapat diinterpolasi dari kurva respons energi dari bejana pengion, terdapat sejumlah kemungkinan kesalahan bila prosedur tersebut dilaksanakan. Untuk itu disarankan agar semua kalibrasi bejana pengion dilakukan dengan menggunakan baku acuan yang otentik untuk masing-masing radionuklida, sebagaimana diterangkan berikut ini.

Kalibrasi suatu kalibrator dosis harus dijaga dengan menghubungkan hasil pengukuran respons suatu baku dengan baku yang mempunyai waktu paruh panjang, seperti radium 226 yang berada dalam kesetimbangan dengan nuklida anaknya. Alat harus diuji setiap hari dengan  $^{226}\text{Ra}$  atau sumber lain untuk menguji kestabilan jangka panjang. Pengujian ini termasuk kinerja pembacaan baku pada semua pengaturan radionuklida yang digunakan. Untuk memperoleh aktivitas ( $A_x$ ) dari radionuklida yang sedang diukur, gunakan persamaan:

$$A_x = \frac{R_c R}{R_n}$$

$R_n$  adalah pembacaan baru untuk radium atau sumber lain;  $R_c$  adalah pembacaan sumber yang sama yang diperoleh pada awal prosedur kalibrasi;  $R$  adalah pembacaan radionuklida. Koreksi terhadap peluruhan radioaktif harus dilakukan terhadap sumber acuan. Penggunaan prosedur ini harus mengurangi sejauh mungkin setiap efek akibat penyimpangan respons terhadap alat.

Radioaktivitas  $^{226}\text{Ra}$  atau sumber lain yang digunakan untuk prosedur tersebut diatas dianjurkan 75 - 150  $\mu\text{Ci}$ . Disarankan juga agar keberulangan dan/atau stabilitas dari alat yang mempunyai rentang pembacaan ganda diuji untuk semua rentang pembacaan dengan menggunakan baku yang sesuai.

Ukuran dan sumber radioaktif dapat mempengaruhi respons pada kalibrator dosis, dan sering perlu dilakukan koreksi untuk pengukuran cuplikan yang besar.

### DETEKTOR SINTILASI DAN SEMIKONDUKTOR

Bila semua atau sebagian energi radiasi sinar beta atau sinar gamma dilepaskan dalam sintilator, maka dihasilkan foton dengan intensitas sebanding dengan jumlah energi yang dilepaskan. Pulsa-pulsa ini dideteksi oleh tabung foto pelipat ganda elektron dan diubah menjadi pulsa listrik, kemudian dianalisis dengan penganalisa tinggi pulsa menghasilkan spektrum tinggi pulsa yang berkaitan dengan spektrum energi dari radiasi yang dipancarkan oleh sumber. Pada umumnya, spektrum tinggi pulsa sintilasi partikel sinar beta, hampir mendekati spektrum energi sinar beta yang sebenarnya, asalkan sumber partikel sinar beta dibuat sedemikian sehingga absorpsi sendiri sekecil mungkin. Spektrum sinar beta dapat diperoleh dengan menggunakan *kalsium fluorida P* atau *antrasena P* sebagai sintilator, sedangkan sinargamma

biasanya diperoleh dengan hablur *natrium iodida P* yang diaktifkan dengan *talium P* atau detektor semikonduktor germanium-litium volume besar. Spektrum partikel bermuatan juga dapat diperoleh dengan menggunakan detektor semi konduktor silikon dan/atau pencacah proporsional gas. Detektor semi konduktor pada dasarnya adalah bejana pengion bentuk padat, tetapi energi yang diperlukan untuk menimbulkan pasangan elektron lubang atau untuk meningkatkan elektron dari pita valensi ke pita konduksi dalam semikonduktor adalah lebih kurang sepersepuluh dari energi yang dibutuhkan untuk menghasilkan pasangan ion dalam bejana pengion yang berisi gas atau pencacah proporsional, dan jauh lebih kecil dari energi yang diperlukan untuk menghasilkan foton dalam hablur sintilasi NaI(Tl). Dalam spektrofotometri sinar gamma, detektor Ge(Li) dapat menghasilkan daya pisah energi sebesar 0,33% untuk energi sinar gamma 1,33 MeV dari  $^{60}\text{Co}$ , sedangkan hablur NaI(Tl) 3 inci x 3 inci dapat memberikan daya pisah energi 5,9% untuk energi sinar gamma yang sama. Daya pisah energi merupakan ukuran kemampuan untuk membedakan adanya dua sinar gamma yang energinya berdekatan, dan secara konvensional dinyatakan dengan lebar penuh puncak foton pada setengah tinggi, dinyatakan dalam persen energi foto puncak.

Spektrum sinar gamma menunjukkan satu atau lebih foto puncak yang tajam dan khas atau puncak energi penuh sebagai hasil serapan total dalam detektor dari seluruh energi radiasi gamma sumber radioaktif; puncak-puncak ini sangat berguna untuk tujuan identifikasi. Puncak-puncak sekunder juga diamati sebagai akibat hamburan balik, radiasi anihilasi, penjumlahan koinidensi, fluoresensi sinar-X, dan sebagainya, diikuti oleh pita lebar yang disebut puncak Compton, yang timbul dari hamburan foton dalam detektor dan dari bahan sekitarnya. Karena respons foto puncak berbeda-beda tergantung dari energi sinar gamma, maka kalibrasi spektrometri sinar gamma harus dilakukan dengan radionuklida baku yang mempunyai energi sinar gamma dan laju emisi yang telah diketahui. Bentuk spektrum sinar gamma tergantung dari bentuk dan ukuran detektor serta jenis bahan pelindung yang digunakan.

Dalam konfirmasi identifikasi radionuklida dengan spektrometri sinar gamma, perlu dibuat perbandingan antara spektrum dari cuplikan dengan spektrum dari radionuklida yang sama yang kemurniannya telah diketahui menggunakan *parameter alat dan geometri cuplikan* yang sama. Bila radionuklida memancarkan memancarkan sinar-X atau gamma koinidensi, maka sifat khas distribusi tinggi pulsa sering berubah secara drastis, karena adanya efek penjumlahan radiasi koinidensi tersebut dalam detektor karena efisiensi detektor bertambah tinggi (misalnya dengan mendekatkan sumber pada detektor). Efek ini khususnya dapat terlihat pada Iodium 125. Penggunaan spektrometri sinar gamma ini terutama sangat bermanfaat dalam identifikasi radio nuklida dan penentuan cemaran radionuklida.

Jika konfirmasi identitas suatu radionuklida dengan membandingkan langsung dengan spektrum baku radionuklida yang sama tidak mungkin dilakukan, maka

identifikasi radionuklida yang bersangkutan harus dilakukan dengan cara berikut ini. Cuplikan radionuklida yang akan diidentifikasi memenuhi dua atau lebih parameter peluruhan nuklir berikut, dan memenuhi pada rentang  $\pm 10\%$ : (1) waktu paruh; (2) energi tiap sinar gamma atau X yang dipancarkan; (3) kelimpahan masing-masing sinar yang dipancarkan dan (4) Energi maksimum ( $E_{maks}$ ) untuk radionuklida yang luruh dengan pancaran partikel sinar  $\beta$ . Pengukuran-pengukuran tersebut diatas dilakukan pada bagian *Identifikasi dan Penetapan kadar* pada bab ini. Apabila dua atau lebih parameter yang diukur telah sama dengan data peluruhan nuklir yang telah dipublikasikan, maka radionuklida yang diidentifikasi sesuai dengan yang diharapkan.

### Pencacah Sintilasi Cairan

Radionuklida yang memancarkan sinar alfa dan sinar beta dapat ditentukan dengan sistem detektor sintilasi cairan. Dalam sintilasi cairan, energi radiasi diubah menjadi kuantum cahaya yang biasanya dideteksi dengan dua tabung foto pelipat ganda yang diatur sedemikian hingga hanya akan mencacah radiasi koinidensi. Sintilasi cairan adalah larutan yang terdiri dari pelarut, zat terlarut primer dan sekunder dan zat tambahan. Partikel bermuatan melepaskan energinya dalam pelarut dan sebagian energi ini diubah menjadi fluoresensi dalam zat terlarut primer. Fungsi zat terlarut sekunder adalah untuk menggeser radiasi fluoresensi sehingga mempunyai panjang gelombang yang lebih panjang dan dapat dideteksi secara lebih efisien oleh tabung foto pelipat ganda. Pelarut yang sering digunakan adalah *toluena P* dan *p-xilena*; zat terlarut primer adalah 2,5-difeniloksazol (PPO) dan 2-(4'-tert-butilfenil)-5-(4-bifenilil)-1,3,4-oksadiazol (butil-PBD); dan sebagai zat terlarut sekunder yang sering digunakan 2,2'-p-fenilenabis[4-metil-5-feniloksazol](dimetil-POPOP) dan p-bis(o-metil strilil)benzena (bis-MSB). Untuk mempertahankan agar tetap dapat tergabungkan dan tercampurkan dengan cuplikan berair yang akan ditetapkan, beberapa zat ditambahkan seperti surfaktan dan zat pembantu kelarutan juga ditambahkan pada sintilator. Agar penentuan radioaktivitas cuplikan dapat teliti, penyiapan cuplikan harus dilakukan dengan hati-hati agar benar-benar homogen. Adanya cemaran atau warna dalam larutan dapat menyebabkan penurunan keluaran foton sintilator. Penurunan yang demikian dikenal sebagai pemadaman. Pengukuran radioaktivitas yang tepat memerlukan koreksi terhadap laju cacahan yang hilang akibat pemadaman.

Laju peluruhan suatu sumber partikel sinar beta dapat ditentukan dengan suatu cara dengan laju cacahan integral dari cuplikan diukur sebagai fungsi dari penyimpangan diskriminasi tinggi pulsa dan laju emisi diperoleh dengan ekstrapolasi hingga penyimpangan nol. Pemancar partikel sinar alfa dengan energi tinggi dapat pula diukur dengan cara ini.

### Identifikasi

Radionuklida dapat diidentifikasi dari cara peluruhannya, waktu paruhnya dan energi dari emisi nuklirnya.

Waktu paruh radioaktif dengan mudah dapat ditentukan dengan pencacahan berturut-turut sumber radionuklida pada rentang waktu tertentu yang lebih panjang dibandingkan dengan waktu paruh radionuklida tersebut. Respons yang dihasilkan oleh alat pencacah digunakan untuk mengukur peluruhan radionuklida yang mempunyai waktu paruh panjang, harus dipantau menggunakan sumber acuan baku yang mempunyai waktu paruh yang lebih panjang lagi untuk menilai dan mengkompensasi kesalahan yang ditimbulkan karena perubahan elektronik. Dalam hal radionuklida yang berumur pendek, bila rentang waktu pencacahan merupakan fraksi yang bermakna daripada waktu paruh radionuklida yang bersangkutan, maka laju cacahan yang dicatat harus dikoreksi pada waktu saat pencacahan dimulai, sesuai dengan rumus sebagai berikut:

$$R_t = \frac{r\lambda t}{1 - e^{-\lambda t}}$$

$R_t$  adalah laju cacahan pada awal rentang waktu pencacahan;  $r$  adalah laju cacahan yang diamati;  $t$  adalah rentang waktu pencacahan;  $\lambda$  adalah tetapan peluruhan radionuklida;  $e$  adalah dasar logaritma natural. Bila  $t$  kecil dibandingkan dengan waktu paruh radionuklida, sehingga  $\lambda t < 0,05$ , maka  $(1 - e^{-\lambda t})$  mendekati nilai  $\lambda t$ ; maka koreksi seperti tersebut diatas tidak diperlukan.

Energi emisi nuklir inti sering ditentukan dengan rentang maksimum daya tembus radiasi dalam bahan (untuk partikel sinar alfa dan sinar beta) dan dengan puncak energi penuh atau foto puncak dalam spektrum sinar gamma (untuk partikel sinar X dan sinar gamma). Karena partikel sinar beta dipancarkan dengan spektrum energi kontinu, maka energi sinar beta maksimum,  $E_{maks}$  merupakan indeks yang khas untuk setiap radionuklida pemancar sinar beta. Selain rentang maksimum daya tembus dan spektrum energi partikel sinar beta, maka koefisien serapan, bila diperoleh dari kondisi pencacahan yang berulang, dapat menjadi indeks yang handal untuk identifikasi pemancar sinar beta.

Serapan partikel sinar beta dalam bahan, hampir bersifat eksponensial, dan grafik logaritma laju cacahan partikel sinar beta sebagai fungsi ketebalan penyerap, dikenal dengan kurva serapan. Bagian awal dari kurva serapan menunjukkan garis lurus, dari bagian ini koefisien serapan dapat ditentukan. Rentang maksimum daya tembus, ditentukan dengan menggunakan penyerap yang ketebalannya beragam, dan spektrum energi diukur dengan spektrometri sintilasi sinar beta.

Serapan sinar gamma dalam bahan sangat eksponensial, tetapi nilai ketebalan paruh pada penipisan sangat tidak berguna untuk tujuan karakterisasi radionuklida. Sinar gamma dari setiap transisi isomerik selalu berenergi tunggal, dan energinya dapat diukur langsung dengan spektrometri sinar gamma. Karena daya

pisah energinya tinggi, maka detektor padatan [Ge(Li)] jauh lebih unggul daripada detektor sintilasi padatan [NaI(Tl)] dalam spektrometri sinar gamma.

Aktivitas larutan radiofarmaka umumnya dalam satuan milicurie per ml. Larutan demikian biasanya harus diencerkan beberapa kali sebelum diukur. Pelarut yang digunakan harus dapat bercampur dengan sediaan radiofarmaka, ditinjau dari faktor-faktor misalnya pH dan daya redoks, sehingga tidak akan terjadi hidrolisis atau perubahan tingkat oksidasi selama pengenceran, yang dapat mengakibatkan penyerapan dan pemisahan radionuklida dari larutan.

### RADIONUKLIDA PEMANCAR SINAR BETA

**Prosedur penetapan koefisien serapan massa**  
Tolkan dan keringkan cuplikan larutan fosfor 32 di atas lapisan plastik tipis untuk mengurangi terjadinya hamburan balik, dan letakkan di bawah alat pencacah yang sesuai. Tentukan laju cacahan secara berturut-turut, menggunakan tidak kurang dari 6 ketebalan aluminium yang berbeda-beda masing-masing antara 20 mg/cm<sup>2</sup> dan 50 mg/cm<sup>2</sup>, dan satu penyerap yang tunggal yang lebih tebal dari 800 mg/cm<sup>2</sup> digunakan untuk mengukur cacahan latar belakang. (Penyerap disisipkan diantara cuplikan yang diuji dan pencacah, tetapi ditempatkan lebih dekat ke jendela pencacah untuk mengurangi hamburan). Laju cacahan bersih partikel sinar beta diperoleh setelah pengurangan laju cacahan cuplikan dengan laju cacahan yang diperoleh menggunakan penyerap yang mempunyai ketebalan 800 mg/cm<sup>2</sup> atau lebih. Buat grafik logaritma dengan laju cacahan bersih partikel sinar beta sebagai fungsi dari ketebalan total penyerap. Ketebalan total penyerap adalah ketebalan penyerap aluminium ditambah ketebalan permukaan jendela pencacah (sesuai dengan yang dinyatakan oleh produsen) ditambah ketebalan ekuivalen udara (jarak cuplikan dalam centimeter, dari permukaan pencacah dikalikan dengan 1,205 mg/cm<sup>3</sup> pada suhu 20° dan 76 cmHg), semua dinyatakan dalam mg/cm<sup>2</sup>. Garis yang dihasilkan mendekati garis lurus.

Pilih dua ketebalan total penyerap yang berbeda 20 mg/cm<sup>2</sup> atau lebih dan terletak pada garis lurus, dan hitung koefisien serapan massa  $\mu$  dengan persamaan:

$$\begin{aligned} \mu &= \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \left( \frac{N_{t1}}{N_{t2}} \right) \\ &= \frac{2,303}{t_2 - t_1} (\log N_{t1} - \log N_{t2}) \end{aligned}$$

$t_1$  dan  $t_2$  adalah ketebalan total penyerap dalam mg/cm<sup>2</sup>,  $t_2$  untuk penyerap yang lebih tebal;  $N_{t1}$  dan  $N_{t2}$  adalah laju cacahan bersih partikel sinar beta dengan masing-masing ketebalan penyerap  $t_1$  dan  $t_2$ .

Untuk karakterisasi radionuklida, koefisien serapan massa harus terletak pada  $\pm 5\%$  dari nilai yang diperoleh dari cuplikan murni radionuklida yang sama, dan



ditentukan pada kondisi dan geometri pencacahan yang sama.

**Metode lain untuk identifikasi** Metode lain untuk identifikasi pemancar sinar beta juga didasarkan pada penetapan  $E_{maks}$ . Hal ini dapat dilakukan dengan beberapa cara misalnya: (1) menggunakan hubungan rentang penyerap dan energi dari partikel sinar beta dalam penyerap; atau (2) penetapan  $E_{maks}$  dari spektrum partikel sinar beta yang diperoleh pada spektrometer sinar beta yang energinya terkalibrasi menggunakan sumber radionuklida yang tipis (seperti tertera pada *Detektor Sintilasi dan Semikonduktor* dalam bab ini).

#### RADIONUKLIDA PEMANCAR SINAR GAMMA

Spektrum sinar gamma suatu radionuklida sangat berguna dalam identifikasi radionuklida pemancar sinar gamma. Puncak energi penuh atau foto puncak diidentifikasi dengan energi transisi sinar gamma, yang diberikan pada skema peluruhan radionuklida tersebut.

Dalam identifikasi dan penentuan kemurnian radionuklida, spektrum sinar gamma suatu zat radioaktif dapat diperoleh baik dengan menggunakan detektor hablar NaI (Tl) atau detektor semikonduktor Ge(Li). Detektor Ge(Li) mempunyai daya pisah energi lebih besar dari NaI(Tl) dan lebih banyak digunakan untuk tujuan analisis. Bentuk spektrum yang diperoleh harus sama dengan spektrum dari radionuklida yang murni, bila ditentukan dengan geometri dan sistem deteksi yang sama. Spektrum sinar gamma dari sediaan radiofarmaka harus hanya mengandung foto puncak yang dapat diidentifikasi dengan energi transisi sinar gamma yang diperoleh dari skema peluruhan untuk radionuklida tersebut. Untuk efisiensi geometri yang rendah, maka luas puncak setelah dikoreksi dengan efisiensi detektor, sebanding dengan kelimpahan atau laju emisi masing-masing sinar gamma dalam radionuklida tersebut.

#### CEMARAN RADIONUKLIDA

Karena bersifat sangat racun, maka cemaran nuklida pemancar sinar alfa harus dibatasi dengan ketat dalam sediaan radiofarmaka. Prosedur untuk identifikasi radionuklida pemancar sinar beta dan sinar gamma seperti yang diberikan di atas dapat digunakan untuk mendeteksi cemaran sinar gamma dan umumnya sinar beta.

Aktivitas partikel sinar alfa dalam sediaan radiofarmaka dapat diukur dengan menggunakan alat pencacah proporsional tanpa jendela atau detektor sintilasi menggunakan fosfor zink-sulfida yang teraktivasi dengan perak atau dengan teknik pencacahan sintilasi cair.

Ionisasi kuat yang disebabkan oleh partikel sinar alfa memungkinkan untuk melakukan pengukuran radionuklida pemancar sinar alfa yang mengandung nuklida pemancar sinar beta dan sinar gamma dalam jumlah besar, dengan menggunakan teknik yang sesuai untuk membedakan amplitudo pulsa. Dalam pencacahan proporsional, daerah tegangan kerja untuk pencacahan

partikel sinar alfa, disebut *massa stabil* sinar alfa, lebih rendah dari *massa stabil* sinar beta, untuk pencacahan radiasi sinar beta dan sinar gamma. Tegangan *massa stabil* sinar alfa dan sinar beta dengan pencacah gas P-10 masing-masing adalah 900 - 1300 volt dan 1600 - 2000 volt.

Bila fosfor zink-sulfida yang diaktifkan dengan perak digunakan untuk deteksi partikel sinar alfa, maka partikel sinar alfa dapat dibedakan dari radiasi pengganggu lain dari perbedaan tinggi pulsa. Diperlukan tindakan yang hati-hati untuk mengurangi serapan diri pada sumber saat penyiapannya untuk pencacahan sinar alfa.

#### Penetapan Kadar

##### RADIONUKLIDA PEMANCAR SINAR BETA

**Prosedur Laju peluruhan (A)** suatu cuplikan pemancar partikel sinar beta diperoleh dengan pencacahan cuplikan yang diketahui jumlahnya dengan geometri tertentu menggunakan rumus:

$$A = \frac{R}{\epsilon \times f_r \times f_b \times f_s}$$

$A$  adalah efisiensi pencacahan dari alat pencacah;  $f_r$  adalah faktor koreksi terhadap waktu mati alat pencacah;  $f_b$  adalah faktor koreksi terhadap hamburan balik;  $f_s$  adalah faktor koreksi terhadap serapan diri. Laju cacahan untuk penyerap nol didapat dengan ekstrapolasi bagian linier awal kurva penyerapan hingga ketebalan penyerap nol, dengan mempertimbangkan ketebalan tutup cuplikan ( $\text{mg/cm}^2$ ), jendela alat pencacah, dan jarak udara antara cuplikan dengan jendela alat pencacah. Efisiensi alat pencacah,  $A$ , ditentukan dengan menggunakan baku sekunder berumur panjang yang mempunyai karakteristik spektrum yang sama. RaD + E sering digunakan untuk kalibrasi efisiensi alat-alat pencacah untuk fosfor 32. Dengan menggunakan kondisi pengukuran yang sama untuk cuplikan dan baku (dan ekstrapolasi ke penyerap nol), perbandingan nilai-nilai dari  $f_r$ ,  $f_b$  dan  $f_s$  untuk baku dan cuplikan mendekati sama.

Rumus tersebut di atas juga berlaku bila pencacah telah dikalibrasi dengan radionuklida baku yang sama dengan radionuklida yang akan ditentukan. Tetapi dalam hal ini ekstrapolasi ke ketebalan penyerap nol untuk cuplikan dan baku tidak diperlukan, karena kedua koreksi serapan dapat dihilangkan untuk suatu geometri tertentu. Cara lain yang sering digunakan untuk penentuan laju peluruhan suatu radionuklida pemancar sinar beta adalah pencacahan dengan sintilasi cair, yang juga menggunakan ekstrapolasi laju cacahan cuplikan hingga penyimpangan tinggi pulsa nol.

##### RADIONUKLIDA PEMANCAR SINAR GAMMA

Ada 3 cara yang dapat digunakan untuk penetapan radionuklida pemancar sinar gamma. Pemilihan cara yang akan digunakan ditentukan oleh tersedianya baku kalibrasi radionuklida yang akan ditentukan, dan kemurnian radionuklidanya sendiri.

Perbandingan langsung dengan baku kalibrasi diperlukan bila tersedia baku kalibrasi dari radionuklida yang akan ditetapkan, dan bila batas atas kesalahan dalam penetapan radioaktivitas yang timbul karena cemaran radionuklida telah ditetapkan kurang dari 3%. Bila baku kalibrasi yang diperlukan tidak tersedia secara rutin, misalnya karena umumnya pendek, tetapi telah tersedia pada waktu sebelumnya dan dipakai untuk penetapan efisiensi sistem pencacah, maka gunakan sistem pencacah yang telah terkalibrasi asalkan kandungan cemaran radionuklida dalam cuplikan memenuhi persyaratan yang dinyatakan pada cara perbandingan langsung. Bila kedua cara di atas tidak terpenuhi, gunakan cara penetapan radioaktivitas dari kurva kalibrasi.

Kecuali pada cara pertama, kestabilan sistem pencacah yang digunakan perlu dipantau. Hal ini dapat dilakukan dengan dengan cara pengujian harian menggunakan sumber yang mempunyai umur panjang dan pengujian mingguan dengan setidaknya 3 sumber yang mempunyai energi emisi sinar gamma yang lebar (seperti  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  dan  $^{60}\text{Co}$ ). Bila ditentukan penyimpangan dengan pengukuran-pengukuran tersebut, maka perlu dilakukan kalibrasi ulang atau perbaikan alat atau perbaikan alat dan kalibrasi ulang secara menyeluruh sistem pencacah sebelum digunakan lebih lanjut.

**Penetapan cara perbandingan langsung dengan baku kalibrasi** Suatu sistem pengukuran yang selektif pada energi (misalnya penganalisis tinggi pulsa) tidak diperlukan dalam prosedur ini. Gunakan bejana pengion atau sistem pencacah integral dengan detektor NaI (Tl). Faktor geometri yang konsisten untuk setiap cuplikan sangat diperlukan agar diperoleh hasil pengukuran yang tepat. Jika dilakukan berhati-hati ketepatan metode ini mendekati ketepatan laju peluruhan baku kalibrasi yang diketahui.

Tentukan laju cacahan sistem detektor untuk baku kalibrasi dari radionuklida yang akan ditetapkan (gunakan aktivitas yang cukup agar memberikan pengukuran statistik yang baik, tetapi tidak terlalu besar agar tidak timbul masalah waktu mati), dan dengan pemilihan baku demikian hingga mendapatkan ketepatan yang optimum untuk sistem yang digunakan. Ukur secara teliti sejumlah larutan cuplikan (encerkan bila perlu), masukkan ke dalam wadah yang sama dengan wadah yang digunakan untuk baku, dan ukur cacahan cuplikan selama waktu dan kondisi geometri yang sama dengan yang digunakan untuk baku. Jika perbedaan waktu pengukuran antara cuplikan dan baku lebih dari 12 jam, uji kestabilan sistem pengukuran dalam waktu 8 jam setelah pengukuran cuplikan menggunakan sumber yang berumur panjang. Rekam respons alat pencacah terhadap sumber yang juga digunakan pada waktu kalibrasi, dan bila respons melebihi  $\pm 3\%$  dari respons semula, maka perlu dilakukan kalibrasi ulang. Lakukan koreksi pada kedua penetapan radioaktivitas terhadap cacahan latar belakang dan hitung radioaktivitas dalam  $\mu\text{Ci}$  per ml, dengan rumus:

$$SD\left(\frac{g}{b}\right)$$

$S$  adalah kekuatan baku dalam  $\mu\text{Ci}$ ;  $D$  adalah faktor pengenceran;  $g$  dan  $b$  berturut-turut adalah laju cacahan hasil pengukuran untuk cuplikan dan baku.

**Penetapan cara sistem pencacah integral yang terkalibrasi** Sama dengan prosedur yang diberikan pada penetapan cara perbandingan langsung, kecuali bahwa efisiensi sistem detektor ditentukan dan direkam untuk setiap radionuklida yang akan ditetapkan, dan tidak hanya dengan merekam laju cacahan baku. Jadi, efisiensi untuk radionuklida tertentu,  $x$ , ditentukan dengan  $\epsilon_x = b_x/s_x$ ;  $b_x$  adalah laju cacahan yang telah dikoreksi terhadap cacahan latar belakang dan waktu mati, untuk baku kalibrasi radionuklida,  $x$ ; dan  $s_x$  adalah aktivitas baku kalibrasi yang telah disertifikasi, dengan transformasi perdetik. Radioaktivitas ditentukan dengan rumus:

$$A_x = \left( \frac{Dg_x}{\epsilon_x} \right)$$

$D$  adalah faktor pengenceran;  $g_x$  adalah laju cacahan cuplikan (dikoreksi terhadap cacahan latar belakang dan waktu mati);  $\epsilon_x$  adalah efisiensi untuk radionuklida yang bersangkutan.

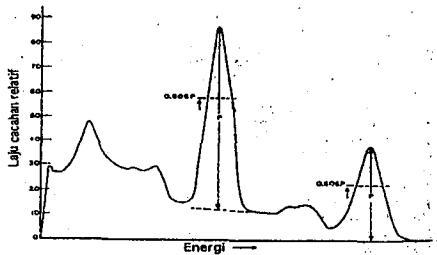
**Penetapan aktivitas dari suatu kurva kalibrasi** Kemampuan dalam pengukuran intensitas absolut sinar gamma bisa dicapai dengan menggunakan analisis tinggi pulsa pada saluran ganda. Efisiensi deteksi foto puncak dari sistem detektor dapat ditentukan sebagai fungsi energi sinar gamma dengan menggunakan suatu seri laju baku pemancar sinar gamma, dan laju emisi sinar gamma suatu radionuklida yang tidak terdapat dalam seri baku bisa ditentukan dengan cara interpolasi dari kurva efisiensi tersebut. Namun demikian, harus diperhatikan bahwa kurva efisiensi sistem detektor harus mencakup seluruh daerah energi yang diperlukan dengan menggunakan sejumlah titik kalibrasi yang cukup sepanjang sumbu energi foto puncak.

*Pemilihan alat pencacah dan sistem terkalibrasi* Spektrometer sinar gamma digunakan untuk identifikasi radionuklida pemancar sinar X atau sinar gamma pada peluruhannya. Persyaratan untuk suatu sistem pencacah yang sesuai untuk identifikasi dan penetapan radionuklida yang digunakan dalam radiofarmaka adalah: (a) Daya pisah detektor didasarkan pada foto puncak 662 keV dari  $^{137}\text{Cs}$  -  $^{137m}\text{Ba}$  harus 8,0% atau lebih baik; (b) Detektor harus dilengkapi dengan pemegang cuplikan yang didesain agar geometrinya tetap untuk menjamin keberulangan geometri pencacahan dan (c) Penganalisis tinggi pulsa harus mempunyai saluran yang cukup agar dapat menggambarkan secara jelas foto puncak yang diamati.

*Prosedur* Persyaratan minimal untuk memelihara kalibrasi peralatan harus terdiri dari pengujian mingguan dengan sumber acuan yang sesuai dan kalibrasi ulang secara keseluruhan setiap setengah tahun. Jika pada pengujian mingguan terjadi penyimpangan lebih dari 4,0% dari nilai yang ditentukan pada waktu kalibrasi, maka perlu dilakukan kalibrasi ulang secara menyeluruh pada saat itu.

Cara ini terdiri dari tiga tahap yaitu integrasi foto puncak, penentuan kurva efisiensi foto puncak dan perhitungan aktivitas cuplikan.

**Integrasi Foto Puncak** Cara untuk penentuan luas puncak menggunakan pendekatan Gaussian untuk menetapkan foto puncak. Bagian yang tetap dari jumlah total cacahan foto puncak dapat diperoleh dengan mengambil lebar puncak,  $a$ , pada bagian tertentu dari maksimum, dimana bentuk puncak secara eksperimen telah mendekati Gaussian dan dikalikan dengan laju cacahan pada saluran dari puncak,  $P$ , setelah laju cacahan puncak dikoreksi terhadap kontribusi laju cacahan puncak dikoreksi terhadap kontribusi Compton dan latar belakang. Cacahan latar belakang biasanya dapat ditentukan dengan interpolasi linier. Hal ini digambarkan pada Gambar 2

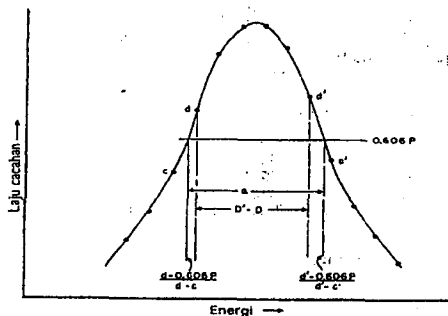


Gambar 2 Spektrum sinar gamma yang menunjukkan pemilihan laju cacahan saluran puncak,  $P$ , setelah dikoreksi terhadap kontribusi Compton dan latar belakang

Bentuk kurva foto puncak paling mendekati garis lurus pada  $0,606 P$  dan kontribusi sebagian saluran-saluran lain terhadap  $a$  dapat diperkirakan secara teliti dengan cara interpolasi. Hitung  $a$  dengan persamaan:

$$a = D' - D + \frac{d - 0,606 P}{d - c} + \frac{d' - 0,606 P}{d' - c'}$$

$c$  dan  $d$  dan juga  $c'$  dan  $d'$  berturut-turut adalah laju cacahan saluran tunggal pada kedua sisi dari  $0,606 P$ ;  $D$  dan  $D'$  adalah nomor-nomor saluran (lokasi) berturut-turut  $d$  dan  $d'$ . Lokasi variabel yang diperlukan pada foto puncak dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Lokasi variabel yang diperlukan untuk penetapan lebar puncak,  $a$ , pada  $0,606 P$

Dari nilai laju cacahan yang telah diketahui pada saluran dari foto puncak,  $P$ , dan lebar puncak pada  $0,606 P$ ;  $a$ , adalah fraksi luas foto puncak yang terkalibrasi yang dapat diperoleh dari hasil kali  $a \times P(aP)$ .

Tahap-tahap perhitungan yang diperlukan untuk menggunakan cara di atas adalah sebagai berikut:

- (1) Kurangi foto puncak yang akan diukur dengan kontribusi Compton dan latar belakang.
- (2) Tentukan laju cacahan saluran puncak (laju cacahan saluran maksimum setelah dikurangi Compton dan latar belakang),  $P$ .
- (3) Kalikan  $P$  dengan  $0,606$ , dan tentukan garis horizontal yang sesuai dengan lebar puncak,  $a$ .
- (4) Tentukan lebar puncak  $a$ , dengan memasukkan nilai-nilai variabel (diperoleh dengan cara yang ditunjukkan pada Gambar 3) ke dalam persamaan untuk  $a$ .
- (5) Bagian luas puncak terkalibrasi yang diinginkan sama dengan  $a \times P$  atau  $F = aP$  dimana  $F$  adalah bagian luas puncak yang sebanding dengan laju pancaran sumber radioaktif.

Metode ini merupakan cara yang cepat dan tepat untuk penetapan laju emisi sinar gamma dari sumber, sambil terutama menghindari perkiraan subjektif pada bentuk puncak-puncak ikutan.

Kesalahan yang disebabkan oleh penggunaan laju cacahan saluran maksimum, dari penggunaan maksimum teoritis atau laju saluran puncak, adalah sekitar  $1,0\%$  jika  $a = 6$  atau lebih besar.

### KALIBRASI EFISIENSI FOTO PUNCAK

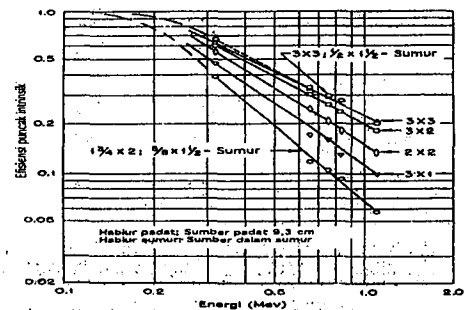
Radionuklida-radionuklida seperti yang tercantum dalam Tabel disertai beberapa data peluruhan nuklirnya, tersedia sebagai baku pembanding. Sejumlah yang cukup sumber baku pembanding radioaktif harus dipilih untuk mendapatkan kurva kalibrasi yang mencakup daerah yang diinginkan. Jika mungkin, sumber baku radionuklida-radionuklida yang dianalisis termasuk di dalamnya. Hitung laju emisi sinar gamma dengan persamaan:

$$r = A_s b$$

$A_s$  adalah aktivitas, dalam peluruhan per detik baku yang digunakan;  $b$  adalah jumlah sinar gamma tiap peluruhan pada energi tersebut.

Ukur dengan tepat sejumlah larutan baku tiap radionuklida dalam wadah yang sama dan tentukan fraksi luas foto puncak ( $F$ ) masing-masing baku.

Menggunakan persamaan  $\epsilon_p = F/\gamma$ , hitung efisiensi foto puncak  $\epsilon_p$  dan gambar grafik dalam bentuk log-log antara  $\epsilon_p$  terhadap energi sinar gamma dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4 Kurva Kalibrasi Efisiensi Foto Puncak untuk berbagai Detektor NaI(Tl)

Tabel sifat-sifat Nuklir<sup>(1,2)</sup>

Emisi dasar foton	Energi (keV)	Foton per100 peluruhan	Emisi dasar foton	Energi (keV)	Foton per100 peluruhan
<sup>129</sup> I (T <sub>1/2</sub> = 1,57x10 <sup>7</sup> tahun)			Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(34,1)	(81,3)
K <sub>α1</sub> <sup>(3)</sup>	29,8	37,0	γ <sup>1</sup>	165,8	80,0
K <sub>α2</sub>	29,5	29,0	<sup>203</sup> Hg(T <sub>1/2</sub> = 46,6 hari)		
K <sub>β</sub>	33,6	13,2	ΣX <sub>L</sub>	10,3	5,6
γ <sup>1</sup>	39,6	7,52	K <sub>α1</sub>	72,87	6,27
Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(31,3)	(77,80)	K <sub>α2</sub>	70,83	3,72
<sup>241</sup> Am(T <sub>1/2</sub> = 432,2 tahun)			K <sub>β</sub>	82,6	2,79
ΣX <sub>L</sub>	13,9	38,2	Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(74,6)	(12,8)
γ <sup>1</sup>	26,4	2,5	γ <sup>1</sup>	279,2	81,5
γ <sup>2</sup>	59,5	35,9	<sup>113</sup> Sn- <sup>113m</sup> In (T <sub>1/2</sub> = 115,1 hari)		
<sup>109</sup> Cd (T <sub>1/2</sub> = 464 hari)			ΣX <sub>L</sub>	3,3	9,0
K <sub>α1</sub>	22,2	55,1	K <sub>α1</sub>	24,2	51,5
K <sub>α2</sub>	22,0	29,1	K <sub>α2</sub>	24,0	27,5
K <sub>β</sub>	24,9	17,8	K <sub>β</sub>	27,3	17,3
Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(22,6)	(102,0)	Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(24,7)	(96,7)
γ <sup>1</sup>	88,0	3,72	γ <sup>1</sup>	255,1	1,9
<sup>195</sup> Au (T <sub>1/2</sub> = 183 hari)			γ <sup>2</sup>	391,7	64,6
K <sub>α1</sub>	66,83	50	<sup>85</sup> Kr (T <sub>1/2</sub> = 10,72 tahun)		
K <sub>α2</sub>	65,12	29,0	γ <sup>1</sup>	514,0	0,43
K <sub>β</sub>	75,7	21,7	<sup>137</sup> Cs- <sup>137m</sup> Ba (T <sub>1/2</sub> = 30,0 tahun)		
Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(68,25)	(100,7)	K <sub>α1</sub>	32,2	3,90
γ <sup>1</sup>	30,88	0,83	K <sub>α2</sub>	31,8	2,11
γ <sup>2</sup>	98,86	10,9	K <sub>β</sub>	36,4	1,42
γ <sup>3</sup>	129,7	0,89	Bobot rata-rata <sup>(4)</sup>	(32,9)	(7,43)
<sup>57</sup> Co (T <sub>1/2</sub> = 270,9 hari)			γ <sup>1</sup>	661,6	89,9
ΣX <sub>k</sub>	6,5	56,0	<sup>94</sup> Nb (T <sub>1/2</sub> 2x10 <sup>4</sup> tahun)		
γ <sup>1</sup>	14,4	9,5	γ <sup>1</sup>	702	100,0
γ <sup>2</sup>	122,1	85,6	γ <sup>2</sup>	871	100,0
γ <sup>3</sup>	136,4	10,6	<sup>22</sup> Na (T <sub>1/2</sub> = 2,60 tahun)		
Bobot rata-rata (γ <sup>2</sup> + γ <sup>3</sup> ) <sup>(4)</sup>	(125,0)	(96,2)	Hν	511	179,78 <sup>(5)</sup>
<sup>139</sup> Ce (T <sub>1/2</sub> = 137,7 hari)			γ <sup>1</sup>	1274,5	99,95
K <sub>α1</sub>	33,4	42,6	<sup>60</sup> Co (T <sub>1/2</sub> = 5,27 tahun)		
K <sub>α2</sub>	33,0	23,1	γ <sup>1</sup>	1173,2 <sup>(6)</sup>	99,88
K <sub>β</sub>	37,8	15,6	γ <sup>2</sup>	1332,5 <sup>(6)</sup>	99,98

1) Untuk tujuan pengukuran sinar gamma atau sinar X radiasi fluoresensi dari perisai timbal (khususnya, sinar X timbal K<sub>α</sub>76 keV) dapat mempengaruhi hasil kuantitatif. Untuk mengatur efek ini atau menekan radiasi dapat dilakukan dengan cara melapisi timbal yang terpapar dengan lembaran kadmium setebal antara 0,06 inci dan 0,08 inci; kemudian lapis kadmium dengan tembaga setebal antara 0,02 inci dan 0,04 inci.

- 2) Yang biasanya disertakan hanyalah emisi foton yang mempunyai limpahan lebih besar atau sama dengan 1%.
- 3) Notasi K mengacu pada emisi sinar-X
- 4) Energi rata-rata dan intensitas total yang diukur dari kelompok foton-foton tidak dapat dipisahkan oleh detektor NaI (Tl).
- 5) Untuk intensitas foton ini agar digunakan, seluruh positron yang diemisikan harus dihilangkan dari bahan sumber.
- 6) Riam

## PENETAPAN AKTIVITAS CUPLIKAN

Dengan cara yang sama seperti pada pembuatan kurva kalibrasi, tentukan luas fotopuncak utama ( $F$ ) pada cuplikan atau alikot yang diukur saksama dengan volume dan wadah yang sama seperti pada baku. Dari kurva kalibrasi, tentukan harga  $\epsilon_p$  untuk radionuklida yang diukur. Dengan menggunakan persamaan:

$$\gamma = \left( \frac{F}{\epsilon_p} \right)$$

hitung laju emisi sinar gamma ( $\gamma$ ). Hitung aktivitas ( $A$ ) dari contoh dalam satuan peluruhan per detik dengan persamaan:

$$A = \left( \frac{\gamma}{b} \right) D$$

$b$  adalah jumlah sinar gamma tiap pelarutan;  $D$  adalah faktor pengenceran.

Untuk mendapatkan aktivitas dalam satuan  $\mu\text{Ci}$  atau  $\text{mCi}$ , bagi  $A$  berturut-turut dengan  $3,7 \times 10^4$  atau  $3,7 \times 10^7$ . Hubungan di atas berlaku juga untuk aktifitas dari kapsul atau cuplikan yang tidak diencerkan; dalam hal ini faktor pengenceran;  $D$  adalah sama.

## SPEKTROFOTOMETRI DAN HAMBURAN CAHAYA <1191>

### PENGUKURAN ULTRA VIOLET, CAHAYA TAMPAK, INFRAMERAH, SERAPAN ATOM, FLUORESENSI, TURBIDIMETRI, NEFELOMETRI DAN RAMAN

*Spektrofotometri serapan* merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektroskopi serapan ultra violet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom. Pengukuran spektrofotometri di dalam daerah cahaya tampak, semula disebut *kolorimetri*, tetapi istilah "kolorimetri" lebih tepat digunakan untuk persepsi tentang warna.

*Spektrofotometri fluorosensi* merupakan pengukuran emisi cahaya dari suatu zat kimia selama diberi paparan ultra violet, cahaya tampak atau radiasi elektromagnetik lainnya. Pada umumnya cahaya yang diemisikan oleh larutan yang berfluorosensi mempunyai intensitas maksimum pada panjang gelombang yang biasanya 20 - 30 nm lebih panjang dari panjang gelombang radiasi eksitasi.

*Hamburan cahaya* menyangkut pengukuran cahaya yang dihamburkan akibat tidak homogenya densitas optik submikroskopis dari larutan dan berguna dalam penentuan bobot molekul rata-rata sistem polidispersi dengan jangkauan bobot molekul dari 1000 sampai

beberapa ratus juta. Dua teknik yang sering digunakan dalam analisa farmasi adalah *turbidimetri* dan *nefelometri*.

*Spektroskopi Raman* (hamburan cahaya tidak elastis) merupakan proses hamburan cahaya yang contoh ujinya disinari dengan cahaya monokromatik kuat (biasanya cahaya laser) dan cahaya yang dihamburkan dari contoh tersebut dianalisis pergeseran frekuensinya.

Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultra violet sampai ke inframerah. Untuk mempermudah acuan, daerah spektrum ini pada garis besarnya dibagi dalam daerah ultra violet (190 - 380 nm), daerah cahaya tampak (380 - 780 nm), daerah inframerah dekat (780 - 3000 nm) dan daerah inframerah (2,5 - 40  $\mu\text{m}$  atau 4000 - 250  $\text{cm}^{-1}$ ).

### Kegunaan Komparatif Daerah Spektrum

Untuk sebagian besar bahan farmasi pengukuran spektrum dalam daerah ultra violet dan cahaya tampak dapat dilakukan dengan ketelitian dan kepekaan yang lebih baik daripada dalam daerah inframerah dekat dan inframerah. Apabila larutan diamati dalam sel 1 cm dengan kadar lebih kurang 10  $\mu\text{g}$  per ml contoh, sering menghasilkan serapan sebesar 0,2 - 0,8 di daerah ultra violet atau cahaya tampak. Di daerah inframerah dan inframerah dekat, diperlukan kadar berturut-turut sebesar 1 - 10 mg per ml dan sampai 100 mg per ml, untuk menghasilkan serapan yang memadai; untuk daerah spektrum ini biasanya dipakai sel dengan panjang 0,01 - 3 mm.

Spektrum ultra violet dan cahaya tampak suatu zat pada umumnya tidak mempunyai derajat spesifikasi yang tinggi. Walaupun demikian, spektrum tersebut sesuai untuk pemeriksaan kuantitatif dan untuk berbagai zat, spektrum tersebut bermanfaat sebagai tambahan untuk identifikasi.

Spektroskopi inframerah dekat, makin sering digunakan dalam analisis farmasi terutama untuk identifikasi cepat dengan jumlah contoh yang banyak dan juga untuk penetapan kadar air.

Daerah inframerah dekat terutama sesuai untuk penetapan gugus -OH dan -NH, seperti air dalam alkohol, -OH dalam lingkungan amina, alkohol dalam hidrokarbon, dan amina primer dan sekunder dalam lingkungan amina tersier.

Spektrum inframerah bersifat khas untuk suatu senyawa kimia tertentu, dengan pengecualian isomer optik yang mempunyai spektrum identik. Namun polimorfisme kadang-kadang dapat menyebabkan perbedaan dalam spektrum inframerah suatu senyawa tertentu dalam keadaan padat. Seringkali perbedaan kecil dalam struktur menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam spektra. Karena banyaknya maksimum yang terdapat dalam spektra serapan inframerah, kadang-kadang dimungkinkan untuk melakukan pengukuran kuantitatif masing-masing komponen dari suatu campuran yang komposisi kualitatifnya diketahui tanpa pemisahan terlebih dahulu.

Spektrum Raman dan spektrum inframerah memberikan data yang serupa, walaupun intensitas spektranya ditentukan oleh sifat molekul yang berlainan. Spektroskopi raman dan inframerah memperlihatkan kepekaan relatif yang berbeda untuk gugus fungsional yang berbeda, misalnya spektroskopi raman terutama sensitif terhadap ikatan rangkap C-S dan C-C, dan beberapa senyawa aromatik lebih mudah diidentifikasi melalui spektra raman. Air mempunyai intensitas spektrum serapan inframerah yang sangat tinggi, tetapi spektrum ramannya sangat lemah. Oleh sebab itu, air hanya mempunyai daerah inframerah terbatas yang dapat digunakan untuk menguji zat terlarut dalam cairan mengandung air, sedangkan spektrum raman dari air hampir transparan seluruhnya dan berguna untuk identifikasi zat yang terlarut. Dua keterbatasan utama spektroskopi raman adalah kadar minimum spesimen yang dapat dideteksi biasanya  $10^{-2}$  hingga  $10^{-1}$  M dan bahwa cemar yang terdapat dalam berbagai zat dapat berfluoresensi serta mengganggu deteksi sinyal Raman yang terhamburkan.

Pengukuran reflektansi optikal memberikan informasi spektral yang serupa dengan yang diperoleh pada pengukuran transmisi. Oleh karena pengukuran reflektansi hanya memeriksa komposisi permukaan contoh tersebut, kesulitan yang berkaitan dengan ketebalan optik serta sifat hamburan cahaya dari zat tersebut tereliminasi. Dengan demikian, sering kali pengukuran reflektansi dapat dilakukan dengan lebih sederhana pada bahan yang serapannya intensif. Suatu teknik yang biasa digunakan untuk pengukuran reflektansi inframerah dinamakan reflektansi total teratenuasi (RTA), juga dikenal sebagai reflektansi internal ganda (RIG). Dalam teknik RTA, berkas spektrofotometri inframerah dilewatkan melalui bahan jendela inframerah yang sesuai (misal KRS-5, suatu campuran etetik TIBr-TII), yang dipotong pada sudut sedemikian sehingga berkas inframerah memasuki permukaan pertama (depan) jendela, tetapi terefleksi secara total apabila berkas itu jatuh pada permukaan kedua (belakang) (artinya sudut jatuh radiasi pada permukaan yang kedua dari jendela melampaui sudut kritis untuk bahan tersebut). Dengan konstruksi jendela yang tepat, memungkinkan untuk memperoleh banyak refleksi internal dari berkas inframerah sebelum berkas ditransmisikan keluar jendela. Jika contoh ditempatkan melekat erat pada jendela sepanjang sisi yang merefleksi cahaya inframerah secara total, maka intensitas radiasi yang direfleksikan berkurang pada tiap panjang gelombang (frekuensi) yang diserap oleh contoh. Dengan demikian bila dibandingkan dengan pengukuran reflektansi sederhana, teknik RTA menghasilkan spektrum reflektansi yang bertambah intensitasnya sebanyak jumlah reflektansi berkas inframerah dalam jendela. Teknik RTA memberikan kepekaan yang baik, akan tetapi keberulangannya tidak baik dan bukan merupakan teknik kuantitatif yang dapat diandalkan, kecuali bila digunakan baku internal yang dicampurkan dengan baik sekali dengan setiap contoh uji.

*Spektrofotometri fluoresensi* sering kali lebih sensitif daripada spektrofotometri serapan. Dalam pengukuran serapan, transmitan contoh dibandingkan dengan transmisi blangko; dan pada kadar rendah, larutan keduanya memberikan sinyal yang tinggi. Sebaliknya, pada spektrofotometri fluoresensi blangko pelarut memberikan luaran yang rendah, sehingga radiasi latar belakang tidak mengganggu penetapan pada kadar rendah menjadi berkurang. Hanya ada sedikit senyawa yang dapat ditetapkan dengan baik sekali pada kadar dibawah  $10^{-5}$  M dengan serapan cahaya, namun tidak luar biasa untuk menggunakan kadar dari  $10^{-7}$  M hingga  $10^{-8}$  M dalam spektrofotometri fluoresensi.

### Teori dan Istilah

Daya dari suatu berkas radiasi akan berkurang sehubungan dengan jarak yang ditempuhnya melalui medium penyerap. Daya tersebut juga akan berkurang sehubungan dengan kadar molekul atau ion yang terserap dalam medium tersebut. Kedua faktor tersebut menentukan proporsi dari kejadian total energi yang timbul. Penurunan daya radiasi monokromatis yang melalui medium penyerap yang homogen dinyatakan secara kuantitatif oleh Hukum Beer,  $\log_{10} (1/T) = A = abc$ ; istilah tersebut didefinisikan sebagai berikut:

*Serapan* [Simbol:  $A$ ] Logaritma dasar 10 dari kebalikan transmitans ( $T$ ). [Catatan Istilah yang digunakan sebelumnya meliputi densitas optik; absorpsi dan ekstingsi.]

*Daya serap* [Simbol:  $a$ ] adalah hasil bagi serapan ( $A$ ) dibagi dengan hasil perkalian kadar yang dinyatakan dalam g per liter zat ( $c$ ) dan panjang sel dalam cm ( $b$ ).

[Catatan Jangan dirancukan dengan indeks absorpsi; ekstingsi spesifik atau koefisien ekstingsi]

*Daya serap molar* [Simbol:  $\epsilon$ ] Hasil bagi serapan ( $A$ ) dengan hasil perkalian kadar zat, dinyatakan dalam mol per liter, dengan panjang serapan dalam cm. [Catatan: Istilah yang digunakan sebelumnya meliputi indeks serapan molar, koefisien ekstingsi molar dan koefisien serapan molar.]

Untuk sebagian besar sistem yang digunakan dalam spektrofotometri serapan, daya serap suatu zat merupakan konstanta yang tidak tergantung pada intensitas radiasi datang, panjang sel bagian dalam dan kadar, dengan demikian kadar dapat ditetapkan secara fotometri.

Hukum Beer tidak menunjukkan adanya pengaruh suhu, panjang gelombang atau jenis pelarut. Untuk sebagian besar analisis pengaruh variasi suhu yang normal dapat diabaikan.

Penyimpangan dari Hukum Beer dapat disebabkan oleh variabel kimia atau instrumen. Kegagalan Hukum Beer dapat disebabkan oleh perubahan kadar molekul terlarut sebagai akibat penggabungan antar molekul terlarut atau penggabungan antara molekul terlarut dan molekul pelarut, atau disosiasi atau ionisasi. Penyimpangan lain dapat disebabkan oleh pengaruh instrumen seperti radiasi polikromatis, pengaruh lebar celah atau cahaya yang menyimpang.

Bahkan pada suhu tertentu dalam pelarut tertentu, daya serap tidak benar-benar konstan. Walaupun demikian dalam hal contoh hanya mempunyai satu komponen yang menyerap, tidak perlu sistem serapan tersebut memenuhi Hukum Beer untuk digunakan dalam analisa kuantitatif. Kadar yang tidak diketahui dapat diperoleh dengan membandingkan dengan suatu kurva baku yang ditetapkan secara eksperimental.

Meskipun dalam pengertian yang eksak, Hukum Beer tidak berlaku dalam spektrofotometri serapan atom karena kurang pastinya panjang sel dan kadar, proses penyerapan yang terjadi dalam nyala api pada kondisi aspirasi yang berulang kembali, pada prinsipnya mengikuti Hukum Beer tersebut. Khususnya logaritma negatif dari transmitans atau serapan berbanding lurus dengan koefisien absorpsi, jadi berbanding lurus dengan banyaknya atom yang menyerap. Atas dasar ini, kurva kalibrasi dapat dibuat untuk evaluasi nilai serapan yang tidak diketahui dalam arti kadar zat dalam larutan.

*Spektrum serapan* Suatu penampilan dalam bentuk grafik dari serapan atau fungsi dari serapan terhadap panjang gelombang atau suatu fungsi dari panjang gelombang.

*Transmitan* [Simbol:  $T$ ] Hasil bagi daya radiasi yang ditransmisikan oleh contoh dengan daya radiasi yang jatuh pada contoh tersebut. [Catatan Istilah yang digunakan sebelumnya termasuk *transmitansi* dan *transmisi*.]

*Intensitas fluoresensi* [Simbol:  $I$ ] Suatu pernyataan empiris dari aktivitas fluoresensi, biasanya diberikan dalam unit berubah-ubah yang sebanding dengan respon detektor. *Spektrum emisi fluoresensi* merupakan suatu penyajian grafik dari distribusi spektrum radiasi yang diemisikan oleh suatu zat yang diaktifkan, yang menunjukkan intensitas radiasi yang diemisikan sebagai ordinat dan panjang gelombang sebagai absis. *Spektrum eksitasi fluoresensi* merupakan penyajian grafik dari spektrum aktivasi yang menunjukkan intensitas radiasi yang diemisikan oleh zat yang diaktifkan sebagai ordinat dan panjang gelombang radiasi yang mengaktifkan sebagai absis. Seperti dalam spektrofotometri serapan, daerah penting spektrum elektromagnetik yang dicakup oleh fluoresensi senyawa organik adalah daerah ultra violet, cahaya tampak, dan inframerah dekat, yaitu daerah dari 250 - 800 nm. Setelah molekul menyerap radiasi, energi dapat hilang sebagai panas atau dibebaskan dalam bentuk radiasi dengan panjang gelombang yang sama atau lebih panjang dari radiasi yang diserap. Baik serapan maupun emisi radiasi keduanya disebabkan oleh transisi elektron diantara tingkat energi atau orbital yang berbeda dari molekul. Terdapat penundaan waktu antara serapan dan emisi cahaya; interval waktu ini, yang menyatakan panjangnya waktu keadaan tereksitasi tersebut berlangsung, telah diukur lamanya lebih kurang  $10^{-9}$  detik hingga  $10^{-8}$  detik untuk sebagian besar larutan organik yang berfluoresensi. Umur fluoresensi yang pendek tersebut membedakan tipe luminesensi dari fosforesensi yang umurnya panjang, dari  $10^{-3}$  detik sampai beberapa menit.

*Turbidansi* [Simbol:  $S$ ] Efek hamburan cahaya dari partikel yang tersuspensi. Jumlah zat yang tersuspensi dapat diukur dengan mengamati cahaya yang ditransmisikan (turbidimetri) atau yang dihamburkan (nefelometri).

*Turbiditas* [Simbol:  $\tau$ ] Pada pengukuran hamburan cahaya, turbiditas merupakan ukuran bagi berkurangnya intensitas berkas datang per unit panjang suatu suspensi tertentu.

*Aktivitas hamburan Raman*. Sifat molekul (dalam unit  $\text{cm}^4$  per g) yang menentukan intensitas pita Raman yang diamati untuk suatu contoh berorientasi acak. Aktivitas hamburan ditentukan dari derivatif kemampuan polarisasi molekul terhadap gerak molekul yang menimbulkan pita pergeseran Raman. Pada umumnya, intensitas pita Raman berbanding lurus dengan kadar analit.

### Penggunaan Baku Pembanding

Dengan beberapa pengecualian, pengujian dan penetapan kadar secara spektrofotometri pada Farmakope memerlukan *Baku Pembanding FI*. Hal ini untuk memastikan bahwa pengukuran dilakukan pada kondisi yang sama untuk contoh uji dan zat pembanding. Kondisi tersebut mencakup penetapan panjang gelombang, pengaturan lebar celah, penempatan sel dan koreksi sel serta aras transmitannya. Perlu dicatat bahwa sel yang menunjukkan transmitan yang identik pada panjang gelombang tertentu dapat sangat berbeda transmitansinya pada panjang gelombang yang lain. Harus ditetapkan dan dilakukan koreksi sel yang tepat apabila diperlukan.

Pernyataan "sediaan yang serupa" dan "larutan yang serupa" seperti yang digunakan dalam pengujian dan penetapan kadar secara spektrofotometri, menunjukkan bahwa bahan pembanding tersebut adalah *Baku Pembanding FI*, yang disiapkan dan diamati dengan cara yang praktis sama dengan yang digunakan untuk contoh uji. Biasanya dalam membuat larutan Baku Pembanding yang ditentukan, larutan disiapkan dengan kadar lebih kurang (sampai 10%) seperti yang diinginkan dan serapan jenis dihitung berdasarkan jumlah tepat yang ditimbang; jika tidak digunakan bahan Baku Pembanding yang telah dikeringkan sebelumnya, serapan jenis dihitung terhadap zat anhidrat.

Pernyataan "tetapkan secara bersamaan" dan "ukur bersamaan" seperti yang digunakan dalam pengujian dan penetapan kadar secara spektrofotometri, memberikan petunjuk bahwa serapan larutan zat uji dan larutan zat pembanding, yang ditetapkan terhadap blanko, harus diukur berturut-turut dengan segera.

### PERALATAN

Tersedia beberapa jenis spektrofotometer. Pada dasarnya, umumnya jenis spektrofotometer melewatkan energi radiasi monokromatis ke contoh dalam bentuk yang sesuai, dan mengukur intensitas dari fraksi yang ditransmisikan, kecuali pada spektrofotometer IR. Spektrofotometer Fourier Transform Infrared (FTIR)

menggunakan teknik interferometri dimana radiasi polikromatis melewati analit ke dalam detektor berdasarkan intensitas dan waktu. Spektrofotometer UV, cahaya tampak dan IR dispersif terdiri dari sumber energi, alat dispersi (misal prisma atau *grating*), celah untuk seleksi pita panjang gelombang, sel atau wadah untuk zat uji, detektor energi radiasi, dilengkapi dengan amplifier dan alat pengukur. Pada spektrofotometer dioda array, energi dari sumber melewati zat uji dan kemudian didispersikan melalui *grating* ke dalam beberapa ratus dioda peka cahaya yang masing-masing membentuk sinyal foton pada rentang panjang gelombang yang kecil, sinyal tersebut kemudian dikomputerisasi dengan cepat pada rentang terpilih yang mempresentasikan spektrum lengkap. Sistem FTIR menggunakan interferometer menggantikan alat dispersi dan komputer digital untuk memproses data spektra. Beberapa instrumen dioperasikan secara manual, sedangkan yang lainnya dioperasikan dengan otomatis dan merekam secara berkesinambungan. Alat yang digabungkan dengan komputer mempunyai kemampuan untuk menambah dan menyimpan spektra menampilkan perbandingan spektra, dan menunjukkan perbedaan dengan spektroskopi (penyelesaian dengan penggunaan metode pengurangan absorban digital).

Alat-alat tersebut dapat digunakan pada daerah spektrum cahaya tampak; cahaya tampak dan ultra violet (UV); cahaya tampak, UV dan inframerah (IR) dekat; dan pada daerah IR spektrum. Pemilihan jenis analisis spektrofotometri dan alat yang digunakan tergantung pada berbagai faktor seperti komposisi dan jumlah contoh uji yang tersedia, derajat akurasi, sensitivitas, dan selektifitas yang dikehendaki, dan perlakuan terhadap contoh uji.

Alat yang digunakan pada spektrofotometer serapan atom mempunyai beberapa kemampuan khusus. Untuk tiap elemen yang ditetapkan sumber yang spesifik mengemisikan garis spektra untuk diserap harus dipilih. Sumber biasanya adalah lampu hollow katoda, suatu katoda yang dirancang untuk mengemisikan radiasi yang dikehendaki pada kondisi tereksitasi. Saat radiasi diserap oleh elemen contoh uji, biasanya pada panjang gelombang yang sama dengan garis emisinya, elemen pada lampu hollow katoda sama dengan elemen yang ditetapkan. Alat dilengkapi dengan aspirator untuk membawa contoh uji ke dalam nyala, yang biasanya dihasilkan dari udara-asetilena, udara-hidrogen atau untuk kondisi refraktori, nitrogen oksida-asetilena. Nyala berpengaruh pada pemanasan bejana uji. Detektor digunakan untuk membaca sinyal dari bejana uji. Gangguan radiasi dari nyala selama pembakaran dapat dihindarkan dengan penggunaan sinyal yang terputus-putus dari lampu sumber pada frekuensi yang ditentukan. Detektor harus berada pada frekuensi alternatif supaya sinyal langsung yang berasal dari nyala diabaikan. Sistem deteksi, hanya membaca perubahan sinyal dari sumber hollow katoda, yang berbanding langsung dengan jumlah atom yang ditetapkan dari contoh uji. Untuk kebutuhan pemeriksaan obat, dipersyaratkan alat yang dapat membaca unit serapan secara langsung. Alat yang

membaca persen transmittan, persen serapan atau konsentrasi dapat digunakan jika rumus perhitungan yang tertera pada masing-masing monografi disesuaikan sehingga memberikan hasil kuantitatif. Persen serapan atau persen transmittan diubah menjadi serapan,  $A$ , dengan rumus sebagai berikut:

$$A = 2 - \log_{10} (100 - \% \text{ serapan})$$

atau

$$A = 2 - \log_{10} (\% \text{ transmittan})$$

Pembacaan alat dengan pengukur meter, pencacah digital, perekam atau printer, tergantung dari jenis alat yang digunakan. Alat cahaya tunggal atau cahaya ganda yang tersedia dipasaran keduanya dapat digunakan.

Pengukuran intensitas fluoresensi dapat dilakukan dengan suatu *fluorometer penyaring* sederhana. Alat semacam itu terdiri dari sumber radiasi; penyaring primer, bejana uji, penyaring sekunder dan sistem deteksi fluoresensi. Pada jenis fluorometer ini, detektor ditempatkan di atas sebuah sumbu yang membentuk sudut  $90^\circ$  dengan berkas eksitasi. Geometri sudut siku ini memungkinkan radiasi eksitasi menembus contoh uji tanpa mengkontaminasi sinyal luaran yang diterima oleh detektor fluoresensi. Akan tetapi tidak dapat dihindarkan detektor menerima sejumlah radiasi eksitasi sebagai akibat sifat menghamburkan yang ada pada larutan itu sendiri atau adanya debu atau padatan lainnya. Penyaring digunakan untuk menghilangkan sisa hamburan tersebut. Penyaring utama menyeleksi radiasi dengan panjang gelombang pendek yang sanggup mengeksitasi contoh uji, sedangkan penyaring kedua biasanya merupakan suatu penyaring yang lebih halus sehingga melewatkan fluoresensi dengan panjang gelombang yang lebih panjang tetapi menahan hamburan eksitasi.

Pada umumnya fluorometer menggunakan tabung-tabung pengganda cahaya sebagai detektor, tersedia banyak tipe dan masing-masing mempunyai sifat khusus yaitu daerah spektra dengan kepekaan maksimum, keuntungan dan derau elektrik. Cahaya yang diteruskan diperkuat dan dibaca pada sebuah meter atau rekorder.

*Spektrofluorometer* berbeda dengan *fluorometer penyaring*, dimana penyaring diganti dengan monokromator dari prisma atau *grating*. Untuk penggunaan analitikal, spektrofluorometer lebih unggul dari *fluorometer penyaring* dalam pemilihan panjang gelombang; fleksibilitas dan kemudahan, dalam hal yang sama spektrofotometer lebih unggul dari fotometer penyaring.

Banyak tersedia sumber radiasi, lampu merkuri relatif stabil dan memancarkan energi terutama pada panjang gelombang terpisah. Lampu tungsten memberikan energi terus menerus pada daerah cahaya tampak. Lampu xenon bertekanan tinggi sering digunakan pada spektrofluorometer karena merupakan sumber dengan intensitas tinggi yang dapat mengemisikan energi secara terus-menerus dari ultra violet sampai inframerah.



Pada spektrofotometer, monokromator dilengkapi dengan celah. Celah yang sempit menghasilkan resolusi tinggi dan kemurnian spektra, sedangkan celah yang besar mengorbankan hal tersebut untuk kepekaan yang tinggi. Pemilihan ukuran celah berdasarkan pemisahan diantara panjang gelombang eksitasi dan emisi, begitu juga tingkat kepekaan yang dibutuhkan.

Sel contoh yang digunakan pada pengukuran fluorosensi berupa tabung bulat atau persegi panjang sama seperti pada penggunaan spektrofotometri serapan, kecuali keempat sisi vertikalnya dipoles. Ukuran contoh uji biasanya 2 - 3 ml, tetapi beberapa alat dapat menggunakan sel kecil dengan volume 100 - 300  $\mu$ L atau dengan pemegang pipa kapiler yang dapat menampung jumlah lebih kecil contoh uji.

Alat hamburan cahaya yang tersedia umumnya terdiri dari lampu merkuri, dengan penyaring untuk cahaya hijau atau biru kuat, sebuah alat pengatur paparan cahaya, seperangkat penyaring netral yang sudah diketahui transmitannya, dan pengganda cahaya yang peka yang ditempatkan pada lengan yang dapat mengitari sel larutan dan dapat diatur pada suatu sudut dari  $-135^\circ$  hingga  $0^\circ$  hingga  $+135^\circ$  oleh sebuah piringan di luar kotak penyimpanan yang kedap cahaya. Sel larutan bentuknya bermacam-macam, misalnya persegi untuk mengukur hamburan  $90^\circ$ , semioktagon untuk hamburan  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  dan  $135^\circ$ , dan silindris untuk hamburan pada semua sudut. Oleh karena penetapan bobot molekul memerlukan pengukuran secara tepat perbedaan indeks refraksi diantara larutan dan pelarut  $[(n-n_0)/C]$ , maka diperlukan alat kedua, sebuah refraktometer diferensial, untuk mengukur perbedaan yang kecil tersebut.

Spektrometri raman terdiri dari komponen utama sebagai berikut: sumber cahaya radiasi monokromatis (berbagai sinar laser); optik untuk mengumpulkan hamburan cahaya pada contoh uji; monokromator ganda untuk mendispersikan hamburan cahaya dan menghilangkan intensitas kejadian; sistem penguatan dan detektor cahaya yang sesuai. Pengukuran raman sederhana pada sebagian besar contoh uji dengan mengukur titik lebur menggunakan kapiler secara langsung. Karena sumber laser dapat difokuskan secara tepat, hanya membutuhkan beberapa mikroliter contoh uji.

## PROSEDUR

### SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN

Petunjuk operasional rinci dari spektrofotometer diberikan oleh pabrik. Untuk mendapatkan hasil yang absah, operator harus memahami keterbatasan, sumber kesalahan potensial dan variasi alat. Petunjuk penggunaan untuk pemeliharaan, pembersihan, dan kalibrasi alat serta teknik penanganan sel serapan harus diikuti sesuai petunjuk operasi. Hal-hal berikut ini penting untuk diperhatikan.

Periksa instrumen untuk ketepatan kalibrasi. Jika digunakan sumber radiasi yang berkesinambungan, harus diperhatikan panjang gelombang dan skala

fotometrianya; jika digunakan sumber garis spektra, yang harus diperiksa hanya skala fotometrik. Sejumlah sumber energi radiasi yang mempunyai garis spektra yang sesuai intensitasnya, mempunyai ruang yang cukup pada rentang spektra yang dipilih. Sumber spektra kalibrasi tunggal untuk UV dan cahaya tampak yang terbaik adalah lampu merkuri-kuarsa, menggunakan panjang gelombang 253,7; 302,25; 313,16; 334,15; 365,48; 404,66 dan 435,83 nm. Merkuri-kaca juga digunakan diatas 300 nm. Panjang gelombang 486,13 dan 656,28 nm dapat juga digunakan untuk lampu hidrogen. Skala panjang gelombang dapat dikalibrasi dengan kaca penyaring yang sesuai, yang digunakan pada pita serapan daerah UV dan cahaya tampak. Kaca baku yang mengandung didinium (campuran proseodimium dan neodimium) banyak digunakan meskipun kaca yang mengandung holmium lebih baik. Larutan baku holmium oksida telah menggantikan penggunaan kaca holmium. Skala panjang gelombang spektrofotometer IR dekat dan IR diperiksa menggunakan pita serapan dari film polistirena, karbondioksida, uap air atau gas amonia.

Untuk memeriksa skala fotometrik dapat digunakan, sejumlah penyaring anorganik baku yang sama baiknya dengan larutan baku yang diketahui transmitannya seperti kalium bikromat.

Pengukuran serapan kuantitatif biasanya menggunakan larutan zat pada sel penahan cairan. Karena pelarut dan jendela sel keduanya menyerap cahaya, harus dilakukan koreksi pada pengukuran serapan. Sel pembanding untuk spektrofotometer UV dan cahaya tampak yang tidak memerlukan sel koreksi tersedia di pasaran. Pada spektrofotometer IR, koreksi untuk perbedaan sel harus dilakukan. Pada beberapa kasus, sepasang sel diisi dengan pelarut yang dipilih dan ditentukan perbedaan serapannya pada panjang gelombang yang dipilih. Sel yang digunakan untuk larutan uji adalah yang menunjukkan serapan lebih besar dan pengukuran serapan harus dikoreksi dengan mengurangkan perbedaan sel.

Pada FTIR yang terkomputerisasi koreksi tidak diperlukan karena dapat digunakan sel yang sama untuk blangko dan larutan uji. Tetapi, harus dipastikan bahwa transmisi sel konstan.

Perbandingan contoh uji dengan baku pembanding menggunakan puncak serapan spektra sangat baik untuk zat yang dikehendaki. Penetapan kadar menggunakan spektrofotometri biasanya menggunakan panjang gelombang untuk puncak serapan spektra zat yang diuji. Spektrofotometer yang berbeda menunjukkan perbedaan yang kecil pada puncak panjang gelombang yang nyata. Untuk hasil yang baik membutuhkan perbandingan pada panjang gelombang serapan maksimum. Jika perbedaan lebih dari  $\pm 1$  nm dari panjang gelombang yang tertera pada monografi, maka perlu dilakukan rekalisasi.

### Larutan uji

Untuk penetapan menggunakan spektrofotometer UV atau cahaya tampak, umumnya contoh uji dilarutkan ke dalam suatu pelarut. Jika tidak dinyatakan lain dalam

monografi, penetapan dilakukan pada suhu ruang menggunakan panjang lumen 1 cm. Sebagian besar pelarut sesuai untuk rentang ini, termasuk air, alkohol, kloroform, hidrokarbon rantai pendek, eter dan pelarut asam dan basa kuat. Harus diperhatikan agar pelarut yang digunakan bebas dari kontaminan yang memberikan serapan pada daerah spektra yang digunakan. Biasanya disarankan menggunakan pelarut metanol atau alkohol bebas air, atau alkohol yang didenaturasi dengan penambahan metanol tetapi tidak mengandung benzena atau cemaran pengganggu lainnya. Pelarut dengan kualitas khusus untuk spektrofotometri yang terjamin bebas kontaminasi banyak tersedia dipasaran dari berbagai pabrik. Beberapa pelarut organik kualitas analisa lain mungkin mengandung cemaran dalam jumlah kecil yang menyerap kuat pada daerah UV. Lot baru dari pelarut ini harus di periksa dan penggunaan lot yang sama pelarut tersebut untuk penyiapan larutan uji dan larutan baku serta blangko harus dilakukan secara hati-hati.

Tidak ada pelarut dengan ketebalan yang cukup transparan secara sempurna pada semua daerah spektra IR dekat dan spektra IR. Karbon tetraklorida (ketebalan 5 mm) praktis transparan hingga  $6 \mu\text{m}$  ( $1666 \text{ cm}^{-1}$ ). Karbon disulfida (ketebalan 1 mm) sesuai sebagai pelarut hingga  $40 \mu\text{m}$  ( $250 \text{ cm}^{-1}$ ) dengan pengecualian pada daerah  $4,2 \mu\text{m}$  sampai  $5,0 \mu\text{m}$  ( $2381 \text{ cm}^{-1}$  sampai  $2000 \text{ cm}^{-1}$ ) dan  $5,5 \mu\text{m}$  sampai  $7,5 \mu\text{m}$  ( $1819 \text{ cm}^{-1}$  sampai  $1333 \text{ cm}^{-1}$ ), dimana karbon disulfida mempunyai serapan yang kuat. Pelarut lain mempunyai daerah transparan yang relatif sempit. Untuk spektrofotometri IR, penambahan kualifikasi untuk pelarut yang sesuai adalah harus tidak memberikan pengaruh pada zat, biasanya digunakan natrium klorida sebagai sel. Contoh uji disiapkan dengan mendispersikan serbuk halus zat padat contoh pada minyak mineral atau dengan mencampur homogen sebelumnya dengan garam halida alkali yang telah dikeringkan sebelumnya (biasanya digunakan kalium bromida). Campuran dengan garam halida alkali ditetapkan langsung atau dengan cakram atau pelet transparan dengan cara mengempa campuran pada cetakan. Kondisi pengeringan untuk kalium bromida adalah  $105^\circ$  dengan vakum selama 12 jam, walaupun tersedia kalium bromida yang tidak membutuhkan pengeringan. Mikroskopi inframerah atau dispersi minyak mineral lebih disukai bila ketidakproporsionalan antara halida alkali dan contoh uji. Contoh uji untuk mikroskopi inframerah disiapkan dengan ketipisan yang tepat, dan untuk dispersi dalam minyak mineral zat uji disuspensikan sebagai lapisan tipis. Untuk spektrometri raman, banyak pelarut yang sesuai, dan sel kaca zat uji yang normal (tidak berfluoresensi) dapat digunakan. Daerah spektra IR elektromagnetik  $0,8 - 400 \mu\text{m}$ . Dari  $800 - 2500 \text{ nm}$  ( $0,8 - 2,5 \mu\text{m}$ ) umumnya dianggap sebagai daerah IR dekat,  $2,5$  sampai  $25 \mu\text{m}$  ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) pada daerah IR tengah, dan  $25$  sampai  $400 \mu\text{m}$  umumnya dianggap sebagai daerah IR jauh. Jika tidak dinyatakan lain pada monografi, daerah  $3800$  sampai  $650 \text{ cm}^{-1}$  ( $2,6 - 15 \mu\text{m}$ ) digunakan untuk memastikan pemenuhan spesifikasi monografi serapan IR.

Jika nilai panjang gelombang IR diberikan pada masing-masing monografi, huruf s,m,w menunjukkan serapan kuat, serapan sedang dan serapan lemah, sh adalah pundak, bd adalah pita, dan v adalah banyak. Nilai bervariasi dari  $0,1 \mu\text{m}$  atau  $10 \text{ cm}^{-1}$ , tergantung pada jenis alat yang digunakan. Polimorfisme memberikan peningkatan variasi pada spektra IR dari sejumlah senyawa dalam bentuk padat. Pada pengujian dengan serapan IR, jika terdapat perbedaan antara spektra IR dari analit dengan baku, larutkan sejumlah bagian yang sama zat uji dan baku ke dalam sejumlah volume yang sama pelarut yang sesuai, uapkan larutan sampai kering pada wadah yang serupa dengan kondisi yang identik, dan ulangi pengujian menggunakan residu yang diperoleh.

Spektroskopi IR dekat saat ini sangat disukai karena pengujian yang mudah. Zat uji dianalisis dalam bentuk serbuk atau dengan teknik reflektansi menggunakan sedikit atau tanpa perlakuan. Pemenuhan spesifikasi laboratorium dapat ditentukan dengan membandingkan spektra dengan spektra sebelumnya yang diperoleh dari baku pembanding. Beberapa bahan obat menunjukkan daya serap yang rendah pada daerah spektra ini yang dapat menimbulkan radiasi IR dekat yang berpenetrasi ke dalam zat uji lebih dalam dari pada radiasi ultra violet, cahaya tampak dan IR. Spektrofotometri IR dekat dapat digunakan untuk mengamati modifikasi matriks, dan dengan kalibrasi yang baik dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

Pada spektrofotometri serapan atom, sifat pelarut dan konsentrasi zat padat harus menjadi pertimbangan khusus. Pelarut yang ideal adalah yang memberi gangguan minimal baik pada serapan maupun emisi dan menghasilkan atom netral pada nyala. Jika terdapat perbedaan yang signifikan antara tegangan permukaan atau viskositas dari larutan uji dan larutan baku, larutan diaspirasi atau diatomisasi pada kecepatan yang berbeda yang menyebabkan perbedaan yang signifikan dari sinyal yang dihasilkan. Konsentrasi asam dari larutan juga berpengaruh pada proses penyerapan. Pelarut yang digunakan pada penyiapan zat uji dan baku harus sama atau sebisa mungkin serupa dan larutan hasil harus dapat dengan mudah diaspirasi melalui tabung zat uji dari pembakar aspirator. Karena zat yang tidak larut dalam larutan memberikan peningkatan gangguan. Kandungan total zat padat yang tidak larut pada semua larutan sedapat mungkin dibawah 2%.

### Perhitungan

Penggunaan spektrofotometri serapan dalam penetapan kadar dan pengujian umum mempersyaratkan penggunaan baku pembanding. Beberapa pengukuran, terutama pada penetapan kadar, rumus yang ada digunakan untuk menghitung hasil yang diinginkan. Bilangan konstanta biasanya termasuk dalam rumus. Penurunan rumus berikut menunjukkan pendekatan logika pada penetapan konstanta yang terdapat pada rumus penetapan kadar yang tertera pada beberapa monografi.

Hubungan hukum Beer absah untuk larutan baku (S) dan larutan uji (U)

$$(1) A_s = abC_s$$

$$(2) A_u = abC_u$$

$A_s$  adalah serapan larutan baku,  $C_s$  adalah konsentrasi larutan baku,  $A_u$  adalah serapan larutan uji dan  $C_u$  adalah konsentrasi larutan uji. Jika  $C_s$  dan  $C_u$  ditunjukkan dengan unit yang sama dan serapan dari kedua larutan diukur menggunakan sel pembanding mempunyai dimensi yang sama, daya serap,  $a$  dan ketebalan sel,  $b$ , sama, maka kedua rumus dapat digabung, untuk menetapkan  $C_u$

$$(3) C_u = C_s \frac{A_u}{A_s}$$

Jumlah contoh uji bentuk padat yang digunakan untuk analisis biasanya dinyatakan dalam mg. Petunjuk pengenceran diberikan pada penetapan kadar dan konsentrasi enceran larutan yang digunakan untuk pengukuran serapan, biasanya dinyatakan dalam  $\mu\text{g}$  per ml. Jumlah dalam mg contoh uji dari senyawa obat atau bentuk sediaan padat untuk analisis, mengikuti volume ( $V_u$ ) dalam L, konsentrasi ( $C_u$ ) yang didapat dari jumlah zat uji yang terkandung dalam bobot ( $W_u$ ) dalam mg dari senyawa obat [*Catatan  $C_u$  dinyatakan dalam  $\mu\text{g}$  per ml atau mg per L*]

$$(4) W_u = V_u C_u$$

Bentuk rumus yang ditunjukkan pada penetapan kadar dalam monografi zat padat dapat diturunkan dengan mengganti  $C_u$  pada rumus (3) ke dalam rumus (4). Pada rangkuman digunakan rumus (4) dengan pertimbangan keperluan konversi beberapa unit untuk mencapai kesamaan pada rumus (5), Lakukan perhitungan faktor konstanta ( $V_u$ ) hingga diperoleh rumus akhir

$$(5) W_u = V_u C_s \frac{A_u}{A_s}$$

Penurunan yang sama digunakan pada rumus yang tertera pada monografi untuk zat cair yang penetapan kadarnya menggunakan spektrofotometri serapan. Untuk sediaan cair, hasil perhitungan umumnya dinyatakan dalam jumlah mg bahan obat tiap ml sediaan. Jadi perlu untuk memasukkan dalam rumus tambahan persyaratan volume ( $V$ ) dalam ml larutan uji yang digunakan.

Penetapan kadar pada daerah sinar tampak biasanya untuk membandingkan kesesuaian serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku* yang mengandung sejumlah BPF yang lebih kurang sama. Pada keadaan tertentu, dibolehkan tidak menggunakan baku pembanding. Hal ini dapat dilakukan jika penetapan kadar dengan spektrofotometri digunakan untuk analisa rutin dan tersedia kurva baku,

yang dibuat dari BPF sebelumnya dan jika penetapan kadar memenuhi hukum Beer dalam rentang antara 75% sampai 125% konsentrasi akhir yang digunakan untuk penetapan kadar. Dalam hal ini, serapan yang didapat pada penetapan kadar dapat diinterpolasikan pada kurva baku dan hasil penetapan kadar dihitung dari kurva baku.

Kurva baku harus selalu dikonfirmasi secara teratur, dan dibuat baru pada penggunaan spektrofotometer baru atau pereaksi dengan lot baru.

Penetapan kadar secara spektrofotometri lebih baik dilakukan dengan penyiapan langsung dan menggunakan kurva baku. Jika penetapan kadar dilakukan tidak rutin, jangan gunakan kurva baku tetapi menggunakan perbandingan langsung dengan baku pembanding yang jumlahnya lebih kurang sama dengan zat uji dan diperlakukan sama.

### SPEKTROFOTOMETRI FLUORESENSI

Pengukuran dengan fluoresensi merupakan teknik analisis yang berguna. Fluoresensi adalah emisi cahaya dari senyawa dalam keadaan tereksitasi yang dicapai dengan menyerap energi radiasi. Senyawa tersebut disebut fluoresen jika dapat berfluoresensi. Beberapa senyawa dapat ditetapkan dengan prosedur fluoresensi inheren atau dengan membuat derivat fluoresensi yang sesuai.

Contoh uji yang disiapkan untuk spektrofotometri fluoresensi biasanya mempunyai konsentrasi 1 per 10 sampai 1 per 100 dari yang digunakan pada spektrofotometri serapan, dengan alasan berikut: Pada penggunaan analitik, sebaiknya fluoresensi berbanding lurus dengan konsentrasi, tetapi jika konsentrasi contoh terlalu pekat, bagian yang signifikan pada cahaya yang datang diserap oleh zat uji dekat permukaan sel, dan cahaya yang menuju pusat dapat tereduksi. Pada kondisi ini, contoh dapat bertindak sebagai penyaring. Spektrofotometri fluoresensi merupakan teknik dengan sensitifitas tinggi, dan konsentrasi yang sering digunakan antara  $10^{-5}$  -  $10^{-7}$  M. Jika perlu buat kurva kerja antara intensitas fluoresensi dengan konsentrasi dalam hubungan yang linier. Lakukan koreksi menggunakan larutan blangko pada semua pengukuran.

Pengukuran fluoresensi sensitif terhadap debu dan partikel padat lain pada contoh uji. Beberapa pengotor mengurangi intensitas eksitasi dan memberikan kesalahan pembacaan yang lebih tinggi karena terjadi refleksi ganda pada sel contoh uji. Partikel padat dapat dihilangkan dengan sentrifugasi, dapat juga digunakan penyaringan tapi beberapa kertas saring mengandung pengotor berfluoresensi.

Pengaturan suhu sering menjadi penting pada spektrofotometri fluoresensi. Untuk beberapa senyawa, efisiensi fluoresensi dapat berkurang 1% - 2% tiap derajat peningkatan suhu. Pada beberapa kasus, jika presisi maksimum diinginkan, diperlukan pengendalian suhu pada sel contoh. Untuk analisis rutin, cukup dengan membuat pengukuran yang cukup cepat sehingga contoh uji tidak mengalami peningkatan suhu karena paparan sumber cahaya. Beberapa senyawa fluoresensi sensitif

terhadap cahaya. Paparan pada fluorometer, menyebabkan senyawa tersebut mengalami degradasi menjadi produk yang lebih atau kurang berfluoresensi. Efek tersebut dapat dideteksi dengan mengamati respon detektor berhubungan dengan waktu, dan dapat dikurangi dengan atenuasi sumber cahaya dengan penyaring atau tabir.

Perubahan pelarut dapat dengan jelas mempengaruhi intensitas dan distribusi spektra fluoresensi. Tidak dianjurkan untuk mengganti spesifikasi pelarut yang telah ditetapkan pada metoda tanpa penelitian pendahuluan. Beberapa senyawa berfluoresensi dalam pelarut organik tetapi tidak berfluoresensi dalam air. Beberapa pelarut harus dicoba untuk mengetahui senyawa berfluoresensi atau tidak dalam pelarut tersebut sebelum diputuskan untuk digunakan. Pada beberapa pelarut organik, intensitas fluoresensi meningkat dengan berkurangnya oksigen terlarut, yang mempunyai efek pemadaman yang kuat. Oksigen dihilangkan dengan mengalirkan gas inert seperti nitrogen atau helium pada contoh uji.

Perbandingan intensitas fluoresensi contoh uji dengan intensitas fluoresensi zat baku yang diperoleh pada pengaturan alat yang sama memberikan ukuran semikuantitatif bagi kekuatan fluoresensi. Sering kali sebagai baku perbandingan digunakan larutan *kuinin* dalam asam sulfat 0,1 N atau fluoresesin dalam natrium hidroksida 0,1 N dengan kadar tertentu.

### HAMBURAN CAHAYA

Kekeruhan dapat diukur dengan fotometer penyaring fotoelektrik standar atau spektrofotometer, lebih disukai dengan iluminasi di daerah biru dari spektrum. Pengukuran Nefelometer memerlukan alat dengan fotosel yang ditempatkan sedemikian hingga dapat menerima cahaya yang dihamburkan, bukan cahaya yang ditransmisikan; geometri ini juga digunakan dalam fluorometer, sehingga pada umumnya dengan memilih penyaring yang sesuai, fluorometer dapat dipakai sebagai nefelometer.

Turbidimetri perbandingan mengkombinasikan teknologi Nefelometri 90° dan Turbidimetri; yang berisi fotosel yang menerima dan mengukur hamburan cahaya pada sudut 90° dari contoh dan juga menerima dan mengukur hamburan cahaya yang diteruskan di depan contoh; juga mengukur cahaya yang ditransmisikan secara langsung melalui contoh.

Linieritas dicapai dengan menghitung perbandingan pengukuran hamburan cahaya sudut 90° terhadap jumlah pengukuran hamburan cahaya sebelumnya dan pengukuran cahaya yang ditransmisikan.

Keuntungan menggunakan sistem Turbidimetri perbandingan adalah pengukuran cahaya yang menyimpang dapat diabaikan.

Dalam praktek, disarankan agar dipastikan bahwa terjadinya pengendapan partikel yang diukur dapat diabaikan. Hal ini biasanya dilakukan dengan memasukkan suatu koloida pelindung ke dalam medium cairan suspensi. Hasil diinterpretasikan dengan cara membandingkan pembacaan tersebut dengan pembacaan

yang diperoleh pada kondisi yang tepat sama dari bahan tersuspensi yang diketahui kadarnya.

Turbidimetri atau Nefelometri dapat digunakan untuk mengukur endapan yang terbentuk karena interaksi larutan pereaksi yang sangat encer atau bahan partikulat lainnya, seperti suspensi sel bakteri. Untuk memperoleh hasil yang konsisten, semua variabel harus dikontrol dengan teliti. Apabila kontrol semacam itu dimungkinkan, suspensi yang sangat encer dapat diukur.

Contoh terlarut dilarutkan dalam pelarut pada berbagai kadar yang berbeda yang diketahui dengan tepat, pilihan kadar tergantung pada bobot molekul dari zat terlarut dan berkisar dari 1% untuk *bobot molekul* = 10.000 hingga 0,01% untuk *bobot molekul* = 1.000.000. Setiap larutan harus dibersihkan dengan sangat teliti sebelum pengukuran dengan cara penyaringan berulang-ulang melalui penyaring yang halus. Sebuah partikel debu dalam larutan melemahkan intensitas cahaya terhambur yang diukur. Kriteria untuk larutan yang jernih adalah telah dicapai minimum perbandingan intensitas hamburan pada 45°/135°.

Kekeruhan dan indeks refraksi larutan dapat diukur. Dari persamaan umum hamburan cahaya 90° dibuat grafik  $HC/\tau$  terhadap  $C$  dan diekstrapolasi sampai pengenceran tak terhingga dan bobot molekul rata-rata,  $M$ , dihitung dari titik perpotongan  $1/M$ .

### PERBANDINGAN VISUAL

Jika warna atau kekeruhan dibandingkan secara langsung, tabung pembanding warna yang digunakan, diameter dalam dan semua bahan yang digunakan harus sesuai. Untuk pembanding warna, tabung harus dapat dilihat dari bagian atas pada latar belakang putih dengan sumber cahaya berasal dari dasar tabung. Untuk pembanding kekeruhan, tabung harus dapat dilihat secara horisontal dengan latar belakang gelap dan sumber cahaya langsung dari sisi tabung.

Pada penetapan uji batas yang menggunakan pembanding warna dalam dua wadah yang serupa (misal tabung pembanding – padanan warna), dapat digunakan alat yang sesuai dari pada mata telanjang.

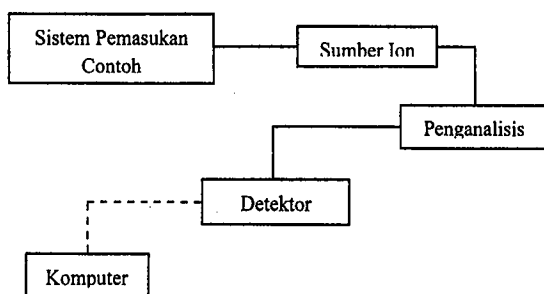
### SPEKTROMETRI MASSA <1201>

Spektrometer massa dapat digunakan untuk mengukur perbandingan massa ion terhadap muatan ion dan untuk mempelajari proses ionisasi. Selain itu, juga dimungkinkan untuk mempelajari reaksi ion dalam fase gas seperti proses dekomposisi unimolekuler dan reaksi ion molekul.

Spektrometer massa adalah suatu instrumen yang menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilih ion tersebut menjadi spektrum sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan ( $m/z$ ) dan merekam kelimpahan relatif tiap jenis ion yang ada. Umumnya ion positif yang dipelajari, karena ion negatif yang dihasilkan dari sumber tumbukan elektron (TE) umumnya sedikit. Dengan

diperkenalkannya teknik ionisasi kimia (IK) dan tembakan atom cepat (TAC) yang keduanya dapat menghasilkan ion negatif yang banyak, maka perhatian terhadap analisis ion negatif meningkat.

Secara umum, spektrometer massa terdiri dari tiga komponen utama seperti yang ditunjukkan pada gambar di bawah: Sumber ion untuk menghasilkan ion berbentuk gas dari zat uji; penganalisis untuk memisahkan ion menjadi komponen massa yang khas sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang ada; dan sistem detektor untuk merekam kelimpahan relatif atau intensitas tiap jenis ion yang dipisahkan. Selain itu, sistem pemasukan contoh diperlukan untuk memasukkan zat uji pada sumber ion sambil tetap mempertahankan persyaratan hampa udara yang tinggi (setara  $10^{-6} - 10^{-8}$  torr). Seperti yang ditunjukkan pada gambar, kebanyakan instrumen dilengkapi suatu komputer untuk memudahkan penanganan sejumlah besar data yang dihasilkan.



**Penganalisis** Penganalisis massa memisahkan massa yang berbeda dalam contoh yang terionisasi, hal ini memungkinkan penetapan massa dan akhirnya kelimpahan atau intensitas relatif tiap jenis ion dapat ditentukan. Empat dari beberapa metode yang umum digunakan adalah (1) kuadrurol (2) penganalisis magnetik, penganalisis, (3) penganalisis waktu tempuh dan (4) penganalisis alihragaman Fourier. Penganalisis elektrostatis sering digunakan bersamaan dengan penganalisis massa lainnya.

Pada metode kuadrurol, pemisahan massa dapat terjadi dalam suatu instrumen yang terdiri dari 4 batang koaksial, idealnya tiap batang mempunyai potongan melintang hiperbolik, tetapi dalam praktek batang sirkuler yang umum digunakan. Dua batang yang berlawanan mempunyai potensial listrik yang tetap ( $U$ ), dua lainnya mempunyai potensial bolak-balik frekuensi radio ( $V, \Omega$ ). Di bawah pengaruh medan listrik ini, semua ion (kecuali satu massa tertentu) dalam berkas ion dibelokkan ke arah sisi dan lenyap; massa terpilih (yang ditetapkan dengan cara mengatur  $U, V, \Omega$ ) dibiarkan melewati batang-batang. Oleh karena semua nilai  $m/z$  lainnya ditolak kecuali satu yang terpilih, maka kadang-kadang penganalisis disebut penyaring massa. Teori menyatakan bahwa massa ion yang tinggi memerlukan waktu yang lebih lama untuk melewati penganalisis, akibatnya mempunyai lebih banyak kesempatan untuk fragmentasi maupun bertumbukan dengan molekul gas tersisa, kepekaan berkurang dengan meningkatnya massa: fenomena ini disebut diskriminasi massa dan merupakan sifat dasar dari penganalisis kuadrurol.

Dengan adanya medan magnetik yang tegak lurus terhadap gerakan berkas ion positif, tiap ion mengalami suatu gaya pada sudut  $90^\circ$  (siku) terhadap arah gerak maupun arah medan magnet dan karena itu berkas ion tadi dibelokkan. Gerakan tersebut dinyatakan oleh persamaan:

$$m/z = \frac{H^2 r^2}{2V}$$

$m$  adalah massa dalam satuan massa atom;  $z$  adalah jumlah muatan listrik;  $H$  adalah kekuatan medan magnet dalam Gauss;  $r$  adalah jari-jari lintasan ion dalam cm; dan  $V$  adalah tegangan akselerasi. Spektrum massa dihasilkan dengan merubah kekuatan medan magnet dan mendeteksi ion yang melewati celah keluar pada saat difokuskan.

Dalam penganalisis waktu tempuh, pemisahan ion dengan massa yang berbeda berdasarkan pada pemberian energi yang sama kepada semua ion. Oleh karena itu ion dengan massa yang berbeda, mempunyai kecepatan yang berbeda. Jika ion melewati jarak tertentu, waktu tempuh jarak tersebut akan bervariasi sesuai dengan massanya. Massa yang lebih ringan bergerak lebih cepat dan mencapai detektor dalam jangka waktu yang lebih pendek. Waktu tempuh diberikan oleh rumus :

$$t(f) = k \sqrt{\frac{m}{z}}$$

$t(f)$  adalah waktu tempuh dalam detik;  $m$  dan  $z$  adalah sama dengan yang telah diuraikan sebelumnya. Oleh karena itu, waktu tempuh berbagai ion adalah sebanding dengan akar kuadrat dari perbandingan massa terhadap muatan ion.

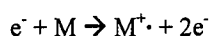
Spektrometer massa alihragaman Fourier (SMAF) adalah teknik yang didasarkan pada gerakan siklotron ion dalam medan magnet yang beragam. Dalam medan magnet dengan kerapatan  $B$ , ion dipaksa bergerak dalam orbit yang sirkuler (siklotron). Frekuensi sudut,  $\omega$ , dari gerakan siklotron diberikan oleh persamaan :

$$\omega = \frac{z \times B}{m}$$

Dalam spektrometer massa resonansi siklotron, orbit siklotron dapat diperluas dengan menempatkan ion pada medan listrik bolak-balik. Jika frekuensi dari pembangkit sinyal sesuai dengan frekuensi siklotron, ion dipercepat secara teratur mencapai radius yang makin lama makin besar hingga terjadi suatu gerakan koheren (dari sejumlah ion) sesuai dengan sejumlah energi kinetik yang bermakna. Setelah eksitasi dihentikan, ion siklotronik menaikkan arus bolak-balik tertentu pada elektrode-elektrode yang kemudian diperkuat. Analisis frekuensi terhadap sinyal penerima menghasilkan massa dari ion yang terlibat dengan ketepatan tinggi. Oleh karena itu, alihragaman Fourier dari sinyal yang waktunya hanya

sebentar menghasilkan spektrum frekuensi untuk komputasi spektrum massa.

*Teknik ionisasi* Ion positif dapat dihasilkan dengan melewati berkas elektron, melalui gas pada tekanan lebih kurang  $10^{-4}$  -  $10^{-6}$  mmHg. Dapat juga digunakan tekanan yang berbeda dengan tekanan diatas, tetapi rentang tekanan tersebut adalah yang paling umum. Energi berkas elektron umumnya terkendali. Jika energi berkas elektron lebih besar dari potensial ionisasi gas, elektron dapat menyebabkan ionisasi dan/atau fragmentasi molekul gas yang ditunjukkan sebagai berikut :



Sumber jenis ini disebut sumber tumbukan elektron (TE). Elektron umumnya diemisikan dari filamen tungsten atau rhenium yang dipanaskan.

Ion yang dibentuk dalam bejana ionisasi dipercepat melalui celah keluar dari sumber menuju daerah penganalisis oleh suatu medan penolakan/penarikan yang sebagian ditetapkan oleh penetrasi medan melalui celah keluar sumber dan sebagian lagi oleh potensial kecil yang diberikan pada lempeng penolak ion dalam bejana ionisasi. Ion selanjutnya dipercepat oleh medan yang jauh lebih besar antara bejana ionisasi dan celah keluar sumber, celah terakhir berada pada potensial dasar.

Konversi suatu spektrometer massa menjadi modus ion negatif adalah mudah, dan alat modern dirancang untuk melaksanakan prosedur itu secara otomatis pada pemilihan parameter tunggal. Secara teoritis, semua yang diperlukan adalah membalikkan arah semua tegangan dan medan percobaan. Ion negatif juga dibentuk dalam berbagai proses ionisasi di atas, sedangkan pemasukan contoh dengan penampang melintang penangkapan elektron yang tinggi menghasilkan pembentukan ion negatif yang berlimpah. Karena itu, seringkali dibuat turunan multi-halida dari senyawa uji.

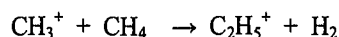
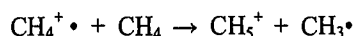
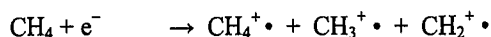
Spektrum massa ion negatif telah berhasil digunakan dalam analisis pestisida karena strukturnya sesuai dengan teknik ini.

Dalam sumber ionisasi medan (IM) ion terbentuk dalam medan elektrostastik kuat yang terbentuk pada ujung kawat elektrode yang dialiri tegangan tinggi. Ion yang terbentuk dari molekul yang berada pada ujung kawat hampir semua adalah ion induk. Sumber tidak digunakan secara luas tetapi sangat bermanfaat untuk mempelajari molekul yang sangat tidak stabil atau campuran yang sangat kompleks dan dalam mempelajari reaksi permukaan.

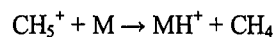
Desorpsi medan (DM) dapat dianggap sebagai perluasan ionisasi medan, perbedaan utamanya adalah bahwa contoh dilapiskan pada ujung pengemisi ion medan dan ionisasi terjadi dari fase padat. Teknik ini memerlukan pengalaman untuk memperoleh hasil yang dapat dipercaya. Spektrum massa yang terutama terdiri dari ion molekular dapat direkam dari senyawa yang sangat tidak mudah menguap dan tidak stabil terhadap panas.

Ionisasi kimia (IK) adalah teknik ionisasi sekunder yang populer, dan kebanyakan instrumen baru dilengkapi dengan fasilitas ini.

Dalam ionisasi kimia, gas pereaksi pada tekanan lebih kurang 0,1 sampai 10 torr dimasukkan pada sumber dan terionisasi. Pada tekanan ini, terjadi reaksi molekul-ion dan terjadi reaksi lebih lanjut ion gas pereaksi primer. Gas pereaksi yang paling umum digunakan adalah metana, isobutana, dan amonia. Reaksi yang khas untuk metana ditunjukkan oleh persamaan berikut ini :

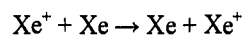
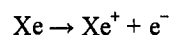


$CH_5^{+}$  merupakan asam kuat Bronsted dan dapat memindahkan proton kepada kebanyakan senyawa organik sebagai berikut :



Dengan metana, ion molekul terprotonasi ( $MH^{+}$ ) yang terbentuk mula-mula dapat mempunyai energi yang cukup untuk terionisasi lebih lanjut.

Dengan metode tembakan atom cepat (TAC) menggunakan berkas atom netral yang cepat untuk menembaki contoh, karena itu persyaratan pertama teknik ini adalah berkas atom yang bergerak cepat, diarahkan dengan tepat pada contoh sasaran, yang dilarutkan dalam matriks cair yang tidak menguap. Hal ini relatif mudah dan metode untuk menghasilkan berkas atom tersebut telah dikembangkan dengan baik. Penembak ion digunakan untuk menghasilkan berkas ion xenon yang mengalami pertukaran muatan dalam sel penumbuk dengan gas xenon cepat yang diperlukan. Prosesnya disimpulkan pada persamaan berikut:



Tanda panah di bawah menunjukkan bahwa partikel bergerak cepat.

Karena teknik tembakan atom cepat (TAC) adalah teknik analisis permukaan, penyiapan contoh dalam rangka mengoptimalkan kondisi permukaan adalah sangat penting. Jika contoh dilapiskan pada 'probe' melalui penguapan larutan, berkas ion contoh yang dihasilkan sering tidak tetap. Sering dihasilkan ion antara. Kecenderungan pembentukan ion antara ( $M + Na$ ) dan ( $M + K$ ) mempunyai beberapa analogi dalam desorpsi medan (DM), terutama dalam ionisasi golongan gula. Fenomena ini dimanfaatkan untuk membantu dalam ionisasi senyawa golongan ini. Permukaan contoh sering diberikan larutan natrium klorida untuk meningkatkan jumlah ion antara. Pemanasan contoh selama analisis kadang-kadang dapat meningkatkan ion yang dihasilkan.

Penekanan jumlah ion contoh mungkin disebabkan oleh destruksi permukaan contoh dan diperlukan cara untuk terus menerus memperbaharui permukaan contoh selama analisis yang dapat dilakukan dengan melarutkan contoh dalam cairan tidak menguap yang sesuai dan dengan melapiskan campuran pada "probe". Dengan cara lain, umur contoh lebih lama 1 jam dalam sumber ion telah menjadi kenyataan dan jangkauan senyawa yang dapat diuji dengan tembakan atom cepat (TAC) sangat diperluas. Umur contoh yang panjang dan kepekaan tinggi menjadikan tembakan atom cepat (TAC) suatu teknik spektrometri massa yang penting untuk menghasilkan spektrum massa dari bahan belum diketahui, bahan yang sulit ditangani, bahan biokimia dan juga memberikan identifikasi tanpa keraguan dari rumus elemen bahan melalui penetapan massa yang akurat. Keuntungan lain dari TAC adalah dalam penetapan struktur berdasarkan pada ion fragmen dalam spektrum.

*Cara pemasukan contoh* Contoh dimasukkan ke dalam bejana ionisasi dalam bentuk gas atau uap. Karena banyak contoh berbentuk gas atau cairan pada suhu ruang dan tekanan atmosfer, diperlukan suatu sistem penanganan contoh dan rangkaian yang memungkinkan masuknya contoh ke sumber ion.

Untuk menghasilkan berkas molekuler secara langsung dari zat padat dalam sistem hampa udara dapat dilakukan secara mudah dengan pemanasan contoh padat dalam krus pada suhu yang cukup tinggi. Beberapa "probe" atau "cartridge" yang terdapat di pasaran dapat digunakan tergantung pada jenis instrumen dan tujuan penggunaan.

Instrumen analitik yang lain digunakan sebagai tempat pemasukan contoh ke dalam spektrometer massa. Yang paling populer dan berhasil pertama kali dikembangkan dalam spektrometer massa adalah gabungan dari kromatografi gas dan spektrometer massa (KG/MS). Gabungan instrumen ini dianggap berhasil karena yang keluar dari kromatografi gas dalam keadaan uap dan masalah utamanya hanya terletak pada keharusan menghilangkan secara selektif gas pembawa yang tidak diinginkan.

Kombinasi kromatograf cair dengan spektrometer massa (KC/SM) adalah masalah yang lebih sulit. Sekalipun kromatografi cair merupakan instrumen pemisah yang bermanfaat, pelarut pengeluasi yang banyak digunakan sering kali adalah pelarut yang cukup polar, kompleks dan relatif tidak mudah menguap. Meskipun demikian, gabungan kedua instrumen dapat dilakukan dan instrumen KC/MS tersedia di pasaran.

Pada akhirnya, hampir semua dari berbagai gabungan antara spektrometer massa yang merupakan sistem tempat pemasukan contoh dengan spektrometer massa lain (SM/MS) telah dikembangkan dan dipelajari misalnya; TOF dengan sektor magnetik, dua sektor magnetik, kuadropol dengan sektor magnetik dan lain-lain. Penggunaan teknik ini paling berhasil untuk analisis campuran. Juga telah digunakan untuk analisis struktur yang memerlukan pengionan terhadap molekul yang akan ditetapkan dengan teknik yang terutama menghasilkan ion induk, kemudian ion induk ini dimasukkan ke dalam

spektrometer massa kedua untuk mempelajari pola fragmentasi.

*Analisis data dan interpretasi* Walaupun molekul umumnya bermuatan netral, jika satu elektron diambil atau ditambahkan, akan menghasilkan ion molekuler. Massa ion ini adalah bobot molekul dari molekul yang diteliti. Selanjutnya, seringkali dimungkinkan untuk menentukan massa ion ini secara akurat dengan ketepatan yang cukup untuk dapat menghitung rumus empiris dari senyawa. Massa yang akurat dapat ditetapkan pada resolusi yang tinggi baik oleh pengukuran melalui penataan atau mencocokkan puncak zat.

Ion fragmen dihasilkan dari ion-ion molekuler melalui berbagai proses pemecahan ikatan. Terdapat banyak pustaka yang membahas kaitan antara pola pemecahan ikatan (pola fragmen) dengan struktur molekuler. Korelasi spektrum massa dan struktur molekul dibahas untuk steroid, aromatik, alifatik dan akhir-akhir ini juga untuk senyawa kompleks yang berasal dari bioteknologi.

Spektrum massa seringkali sangat kompleks dan tidak semua ion dapat dipisahkan dengan spektrometer massa. Batas kemampuan instrumen untuk memisahkan dua ion yang massanya sangat berdekatan disebut daya pisah dari instrumen. Definisi ini menyatakan daya pisah dari suatu spektrometer massa adalah nomor nilai massa tertinggi pada tempat puncak-puncak dengan bobot molekul berdekatan dan tinggi yang sama mempunyai suatu "lembah" diantaranya seharga 10% dari tinggi puncak. Dalam spektrometer massa, resolusi rendah mencakup rentang lebih kurang 100 - 2000, resolusi sedang 2000 - 10.000 dan resolusi tinggi lebih besar dari 10.000.

Analisis kuantitatif dalam spektrometer massa umumnya dilakukan dengan salah satu dari dua cara. Yang pertama adalah pemantauan secara ion selektif. Dalam teknik ini, sekelompok ion yang diinginkan difokuskan tersendiri pada detektor dan diukur. Baik kepekaan maupun selektifitas ditingkatkan melalui teknik ini.

Teknik kuantitatif kedua yang terkenal adalah pengenceran isotop. Metode ini dapat dilaksanakan melalui penggunaan isotop yang reaktif atau stabil, penggunaan isotop yang stabil lebih disukai untuk spektrometri massa. Teknik pengenceran isotop mempunyai keuntungan yang unik, bahwa tidak perlu untuk memperoleh kembali seluruh bahan asal yang dianalisis untuk mendapatkan informasi kuantitatif yang diinginkan. Teknik ini telah berhasil diterapkan dalam mempelajari bahan biologik, sering dalam kombinasi dengan KG/SM atau KC/SM.

## UJI AEROSOL <1211>

### PROPELAN

*[Perhatian Propelan hidrokarbon sangat mudah terbakar dan meledak. Perhatikan tindakan pengamanan; lakukan pengambilan cuplikan dan pekerjaan analitik dalam lemari asam berventilasi baik.]*

## Prosedur Umum Pengambilan Cuplikan

Prosedur ini digunakan untuk pengambilan cuplikan propelan dalam bentuk gas pada suhu lebih kurang 25° dan disimpan dalam silinder bertekanan tinggi. Gunakan silinder cuplikan dari baja tahan karat, yang dilengkapi dengan katup baja tahan karat, berkapasitas tidak kurang dari 200 ml dan daya tekanan 240 psi atau lebih. Keringkan silinder dengan katup terbuka pada suhu 110° selama 2 jam, dan hampakan silinder panas tersebut hingga tekanan kurang dari 1 mmHg. Tutup katup, dinginkan dan timbang. Sambungkan salah satu ujung unit pengisi secara ketat pada wadah propelan, sedangkan ujung lain disambungkan secara longgar pada silinder cuplikan. Buka wadah propelan hati-hati, dan biarkan propelan mengalir keluar unit pengisi melalui sambungan yang dapat dilonggarkan. Hindari pengaliran terlampau cepat yang mengakibatkan kelembaban membeku pada unit pengisi dan sambungan. Ketatkan sambungan silinder cuplikan dan buka katup hingga propelan mengalir ke dalam silinder yang telah dikosongkan. Lanjutkan pengambilan cuplikan hingga diperoleh jumlah cuplikan yang dibutuhkan, kemudian tutup katup wadah propelan, dan akhirnya tutup katup silinder cuplikan. [Perhatian Silinder cuplikan tidak boleh diisi berlebihan.] Timbang lagi silinder cuplikan yang sudah terisi dan hitung bobot cuplikan.

### Suhu Didih Perkiraan

Masukkan 100 ml cuplikan ke dalam tabung sentrifuga alas bulat yang sebelumnya telah ditara, dan berisi beberapa batu didih, kemudian timbang. Celupkan termometer ke dalam cairan, dan letakkan tabung di dalam media yang suhunya dipertahankan pada 32° di atas suhu didih perkiraan. Bila pembacaan suhu termometer sudah tetap, rekam sebagai suhu didih pembacaan termometer setelah 5% cuplikan terdestilasi. Simpan sisa cuplikan untuk penetapan *Residu Suhu Didih Tinggi*.

### Residu Suhu Didih Tinggi, Metode I

Biarkan 85 ml cuplikan seperti pada pengujian *Suhu didih perkiraan*, dan pindahkan tabung sentrifuga yang berisi 15 ml cuplikan yang tersisa dalam media yang suhunya dipertahankan pada 10° di atas suhu didih. Sesudah 30 menit, keluarkan tabung dari tangas air, keringkan bagian luar tabung dengan kertas penering, dan timbang. Hitung bobot residu.

### Residu Suhu Didih Tinggi, Metode II

Buat kumparan pendingin dari pipa tembaga (diameter luar lebih kurang 6 mm x panjang 6,1 m) yang dipasangkan pada labu hampa udara bermantel. Celupkan kumparan pendingin ke dalam campuran es kering dan aseton di dalam labu hampa udara bermantel, dan hubungkan salah satu ujung tabung dengan silinder cuplikan propelan. Buka katup silinder cuplikan secara hati-hati, bilas kumparan pendingin dengan lebih kurang

50 ml propelan, dan buang bagian propelan cair tersebut. Lanjutkan pengaliran propelan cair dari kumparan pendingin, dan tampung dalam tabung sedimentasi kerucut 1000 ml yang sebelumnya sudah didinginkan, sampai tanda. Biarkan propelan menguap, menggunakan tangas air hangat yang suhunya dijaga tetap pada lebih kurang 40° untuk mengurangi waktu penguapan. Apabila semua cairan sudah menguap, bilas tabung sedimentasi berbentuk kerucut dua kali masing-masing dengan 50 ml pentana, dan kumpulkan bilasan dalam cawan penguap 150 ml yang sudah ditara. Masukkan 100 ml pelarut pentana ke dalam cawan penguap 150 ml kedua yang sudah ditara; letakkan kedua cawan penguap tersebut di atas tangas air, uapkan sampai kering, dan panaskan kedua cawan penguap dalam oven pada suhu 100° selama 60 menit. Dinginkan dalam desikator, dan timbang. Ulangi pemanasan setiap kali selama 15 menit hingga pada penimbangan berturut-turut perbedaan bobot sekitar 0,1 mg. Hitung bobot residu propelan, dari perbedaan bobot antara kedua cawan penguap tersebut.

### Kandungan Air

Lakukan seperti tertera pada *Penetapan Kadar Air <1031>*, dengan modifikasi sebagai berikut: (a) Sediakan labu titrasi sistem tertutup dengan sebuah lubang lubang yang dapat dilalui oleh pipa dispersi gas dengan porositas kasar untuk dispersi gas yang disambungkan pada silinder cuplikan; (b) Encerkan *Pereaksi* dengan *metanol anhidrat P* hingga tercapai faktor kesetaraan air antara 0,2 dan 1,0 mg per ml; diamkan larutan encer tersebut tidak kurang dari 16 jam sebelum pembakuan; (c) Dapatkan 100 g cuplikan seperti tertera pada *prosedur Umum Pengambilan Cuplikan*, dan masukkan cuplikan ke dalam labu titrasi melalui pipa dispersi gas dengan laju aliran lebih kurang 100 ml gas per menit; jika perlu panaskan silinder cuplikan hati-hati, untuk menjaga laju aliran ini.

### Isi Minimum

Aerosol topikal dan inhaler dosis terukur bertekanan memenuhi persyaratan aerosol seperti tertera pada *Isi Minimum <861>*.

### JUMLAH TOTAL SEMPROTAN TIAP WADAH ATAU INHALER

Lakukan pengujian ini untuk aerosol topikal dan inhaler dosis terukur, pada satu wadah yang sama untuk uji *Keseragaman Kandungan Semprotan* dan untuk *Penetapan kadar*. Tentukan jumlah total semprotan penghantaran dengan menghitung jumlah semprotan untuk persiapan, ditambah bagian yang digunakan untuk penentuan kandungan semprotan, dan lanjutkan penyemprotan sampai wadah atau inhaler kosong.

Persyaratan dipenuhi jika semua wadah atau inhaler yang diuji mengandung tidak kurang dari jumlah semprotan seperti tertera pada etiket.



## UJI KEBOCORAN

Pilih 12 wadah aerosol, catat tanggal dan waktu dengan ketelitian setengah jam. Timbang masing-masing wadah dengan ketelitian mg dan catat bobot dalam mg dari masing-masing wadah sebagai  $W_1$ . Biarkan wadah dalam posisi tegak lurus pada suhu kamar selama tidak kurang dari 3 hari, dan timbang kembali masing-masing wadah, catat bobot dalam mg dari masing-masing wadah sebagai  $W_2$ , catat tanggal dan waktu dengan ketelitian setengah jam. Tentukan waktu,  $T$ , dalam jam, yaitu jangka waktu pengujian. Hitung laju kebocoran dalam mg per tahun, dari masing-masing wadah dengan rumus:

$$(365) \left( \frac{24}{T} \right) (W_1 - W_2)$$

Jika pengujian dilakukan terhadap wadah aerosol dari kaca berlapis plastik, keringkan wadah dalam desikator selama 12 - 18 jam, dan diamkan selama 24 jam pada lingkungan kelembaban tetap sebelum penetapan bobot awal seperti diuraikan di atas. Lakukan pengujian pada kondisi kelembaban yang sama. Kosongkan isi masing-masing wadah menggunakan cara yang aman; misalnya dengan pendinginan untuk menurunkan tekanan internal; buka katup dan tuang. Hilangkan semua residu kandungan dengan pembilasan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian bilas beberapa kali dengan metanol. Kumpulkan wadah, katup, dan semua bagian yang ada hubungan sebagai kesatuan wadah dan panaskan pada suhu 100° selama 5 menit. Dinginkan, timbang, dan catat bobot sebagai  $W_3$  dan tentukan bobot isi bersih ( $W_1 - W_2$ ) untuk masing-masing wadah yang diuji. Jika bobot rata-rata isi bersih sudah ditentukan sebelumnya, harga ini dapat digunakan sebagai bobot isi bersih. Persyaratan dipenuhi jika laju kebocoran rata-rata per tahun untuk ke 12 wadah tidak lebih dari 3,5% dari bobot isi bersih, dan tidak satupun wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 5,0% dari bobot isi bersih per tahun. Jika 1 wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 5,0% per tahun dan tidak satupun wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 7,0% per tahun, tentukan laju kebocoran dari 24 wadah yang lain. Tidak lebih 2 dari 36 wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 5,0% bobot isi bersih per tahun dan tidak satupun dari 36 wadah yang menunjukkan kebocoran lebih dari 7,0% bobot isi bersih per tahun. Apabila bobot isi bersih kurang dari 15 g dan pada etiket tertera masa kedaluarsa, persyaratan dipenuhi jika laju kebocoran rata-rata dari 12 wadah tidak lebih dari 525 mg per tahun dan tidak satupun menunjukkan kebocoran lebih dari 750 mg per tahun. Jika satu wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 750 mg per tahun, tetapi tidak lebih dari 1,1 g per tahun, tentukan laju kebocoran dari 24 wadah tambahan lain. Tidak lebih 2 dari 36 wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 750 mg per tahun, dan tidak satupun dari 36 wadah menunjukkan kebocoran lebih dari 1,1 g per tahun. Uji ini dilakukan disamping uji kebocoran yang lazim dilakukan untuk masing-masing wadah.

## AEROSOL TOPIKAL Laju Semprotan

Pilih tidak kurang dari 4 wadah aerosol, kocok jika dinyatakan pada etiket, buka penutup dan pembungkus, tekan masing-masing katup selama 2 - 3 detik. Timbang saksama masing-masing wadah, celup dalam tangas dengan suhu tetap sampai tekanan internal mencapai keseimbangan pada suhu 25° seperti ditentukan dengan tekanan internal yang tetap seperti tertera pada *Uji Tekanan*. Keluarkan wadah dari tangas, keringkan lembab berlebih pada wadah menggunakan kertas pengering, kocok, jika dinyatakan pada etiket, tekan masing-masing katup selama 5,0 detik (catat waktu dengan seksama menggunakan pencatat waktu) dan timbang kembali bobot masing-masing wadah. Kembalikan wadah ke dalam tangas dengan suhu tetap, dan ulangi tiga kali prosedur yang telah dilakukan untuk setiap wadah. Hitung laju semprotan rata-rata, dalam gram per detik, untuk masing-masing wadah.

### Uji Tekanan

Uji ini dimaksudkan untuk wadah yang dilengkapi dengan katup semprotan berkesinambungan. Pilih tidak kurang dari 4 wadah aerosol, lepaskan penutup dan pembungkus, celup dalam tangas dengan suhu tetap hingga tekanan internal tetap pada suhu 25°. Keluarkan wadah dari tangas, kocok dan buka penyemprot dan bersihkan sisa air dari batang katup kalau masih ada. Letakkan masing-masing wadah pada posisi tegak lurus, dan tetapkan tekanan masing-masing wadah dengan memasang alat pengukur tekanan pada batang katup, pasang kuat dan gerakkan katup hingga terbuka sempurna. Alat dikalibrasi mendekati tekanan yang diperkirakan dan dihubungkan menggunakan adaptor yang sesuai untuk ukuran batang katup. Baca tekanan, langsung dari alat pengukur tekanan.

### INHALER DOSIS TERUKUR BERTEKANAN

Uji-uji berikut dapat diterapkan untuk inhaler dosis terukur bertekanan yang diformulasi sebagai suspensi atau larutan bahan aktif dalam propelan.

### Kinerja Pengukuran

Pilih 10 inhaler bertekanan, lengkap dengan penyemprot, beri tanda pada masing-masing wadah untuk mencegah kekeliruan identitas, dan ikuti prosedur berikut untuk masing-masing wadah. Kocok selama tidak kurang dari 5 detik, dan dengan unit batang katup mengarah ke bawah, buang 1 kali semprotan. Ulangi langkah di atas hingga 5 kali semprotan. Sesudah 1 menit, timbang unit tersebut dan catat bobot sebagai  $W_1$ . Kocok lagi selama 5 detik, dan dengan unit batang katup mengarah ke bawah, buang 1 kali semprotan. Sesudah 1 menit, timbang inhaler dan catat bobot sebagai  $W_2$ . Hitung bobot,  $WD_1$ , isi yang dikeluarkan dari setiap wadah inhaler menggunakan rumus :

$$W_1 - W_2$$

Letakkan masing-masing 10 inhaler, lengkap dengan penyemprot pada posisi tegak, dengan batang katup mengarah ke atas, diamkan unit tersebut tanpa gangguan selama 6 jam atau jangka waktu antara dosis-dosis seperti dinyatakan pada etiket. Setelah waktu tersebut lewat, balikkan masing-masing unit hingga batang katup mengarah ke bawah, kocok baik-baik dan segera buang satu semprotan. Timbang inhaler, dan catat bobot sebagai  $W_3$ . Hitung bobot,  $WD_2$ , isi yang dikeluarkan dari masing-masing wadah inhaler menggunakan rumus :

$$W_2 - W_3$$

Untuk tiap inhaler yang diuji, hitung persentase variasi dalam bobot yang disemprotkan, menggunakan rumus:

$$100 \left( \frac{WD_2}{WD_1} \right)$$

Persyaratan uji dipenuhi jika tidak lebih 1 dari 10 hasil uji berada di luar rentang 75,0% sampai 125,0%. Jika tidak lebih dari 2 hasil uji terletak di luar rentang 75,0% sampai 125,0%, lakukan uji pada 10 inhaler tambahan. Persyaratan uji dipenuhi jika tidak lebih 2 dari 20 hasil uji berada di luar rentang 75,0% - 125,0%.

### Keseragaman Kandungan Semprotan

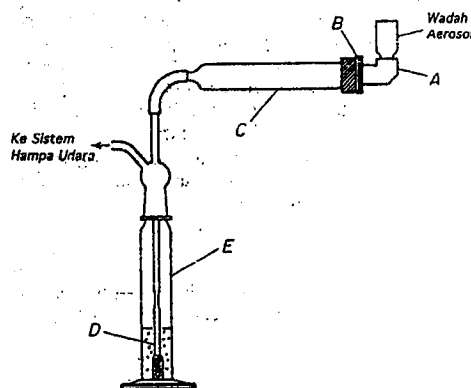
Penetapan kandungan bahan aktif dalam semprotan dari inhaler dosis terukur bertekanan, dapat dilakukan menggunakan alat untuk pengambilan cuplikan semprotan yang diuraikan berikut. Alat ini dianggap memenuhi syarat untuk pengambilan cuplikan dengan laju aliran rendah (12,5 liter per menit). Sebagai alternatif dapat pula digunakan peralatan seperti yang diuraikan dan digambarkan pada *Gambar 1*.

#### ALAT PENGAMBILAN CUPLIKAN SEMPROTAN

Alat yang diuraikan berikut digunakan, apabila dinyatakan dalam masing-masing monografi, untuk memperoleh cuplikan dari aerosol dosis terukur menggunakan penyemprot inhalasi yang terpasang.

Alat ini terdiri dari suatu sistem penerima yang mencakup penyemprot inhalasi (A); adaptor penerima (B); dan tabung penerima (C, lebih kurang 5 cm x 15 cm, menyempit samapi 8 mm pada salah satu ujungnya); satu tabung penyemprot yang pada ujungnya dihubungkan dengan kaca masir porositas kasar untk mendispersikan gelembung udara (D); bejana penampung (E, botol pencuci gas) yang berisi larutan pengabsorpsi; dan suatu sistem hampa udara dilengkapi dengan sumber penghampa udara, pengatur dan pengukur aliran.

Adaptor penerima dibuat sedemikian rupa sehingga dapat disambungkan pada penyemprot inhalasi dan aerosol yang diuji.



Gambar 1 Alat Pengambilan Cuplikan untuk Inhaler Dosis Terukur Bertekanan

Untuk menghindari terlepasnya obat ke dalam atmosfer pada saat aerosol disemprotkan, udara diisap terus menerus dengan kecepatan 12 liter per menit, melalui sistem penerima ke dalam bejana penampung dan larutan pengabsorpsi, menggunakan sistem hampa udara.

### Ukuran Partikel

Distribusi ukuran partikel dan tetesan semprotan yang dikeluarkan inhaler dosis terukur merupakan parameter penting untuk menilai kinerjanya. Partikel inhaler dosis terukur tipe suspensi tidak lebih dari 10  $\mu\text{m}$ , jika selama inhalasi dimaksudkan agar terdeposit pada paru-paru. Dalam hal ini, biasanya partikel dihaluskan hingga lebih kecil dari 5  $\mu\text{m}$ , dan jumlah partikel besar yang disemprotkan dari inhaler dosis terukur dievaluasi dengan cara seperti tertera pada *Mikroskopi*. Demikian juga halnya dengan *Distribusi Ukuran Aerodinamik* yang menentukan *Median Diameter Massa Aerodinamik (MDMA)* dan *Simpangan Baku Geometrik (SBG)* obat yang dikeluarkan inhaler dosis terukur.

Tetapkan distribusi ukuran aerodinamik menggunakan impaktor tingkat tunggal atau ganda yang terkalibrasi (*Alat 1, Alat 2* atau *Alat 3*) pada rentang suhu dan kelembaban tertentu untuk menentukan *Dosis Terhirup* atau *Fraksi Terhirup* sebagai bagian dari keluaran inhaler yang diharapkan berpenetrasi ke paru-paru selama inhalasi.

### MIKROSKOPI

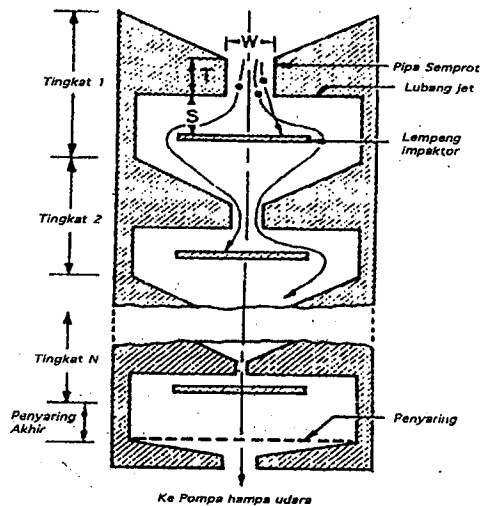
Persiapkan katup inhaler dosis terukur bertekanan dengan mengocok dan menyemprotkan beberapa kali, kemudian semprotkan satu semprotan terukur pada kaca objek bersih dan kering pada jarak 5 cm dari ujung akhir penyemprot inhalasi oral, dengan arah tegak lurus dari arah penyemprotan. Amati kaca objek di bawah mikroskop yang dilengkapi mikrometer okular terkalibrasi dengan perbesaran lebih kurang 500 kali. Fokuskan pada partikel dalam 25 luas pandangan di dekat daerah tengah dari pola cuplikan uji dan catat ukuran partikel lebih kecil dari 5  $\mu\text{m}$  yang paling banyak diukur menurut sumbu terpanjang. Catat jumlah dan ukuran

semua partikel berbentuk 10 µm diukur menurut sumbu terpanjang; teramat tidak lebih dari 10 partikel.

### DISTRIBUSI UKURAN AERODINAMIK

Peralatan tumbukan digunakan mengukur diameter aerodinamik. Dengan menggunakan metode penetapan kadar cara spektroskopi atau kromatografi yang sesuai dan alat tumbukan yang sudah dikalibrasi dengan distribusi ukuran partikel aerodinamik dari obat dapat ditetapkan cukup baik. Pada beberapa keadaan, mungkin diperlukan pengaturan suhu dan kelembaban udara sekitar dan yang melalui peralatan. Kondisi lingkungan dianggap cukup kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi. Selain distribusi ukuran untuk aerosol yang disemprot dari inhaler dapat juga diperoleh keseimbangan bahan lengkap yang ditetapkan dengan pengujian analitik yang baik. Gunakan alat seperti tertera pada masing-masing monografi untuk menetapkan fraksi ukuran partikel halus yang disemprotkan dari inhaler dosis terukur melalui penyemprot inhalasi.

**Impaktor Riam Tingkat Ganda Alat 1** Desain dan susunan dari impaktor riam tingkat ganda dan pintu induksi yang menghubungkan alat dengan inhaler dosis terukur bertekanan dapat dilihat pada *Gambar 2a* dan *Gambar 2b*. Pilih peralatan dan pintu induksi dengan laju aliran yang cukup cepat agar menyerupai terjadinya inhalasi dan mencegah hilangnya obat akibat peniupan balik ketika inhaler disemprotkan. Susun impaktor riam tingkat ganda seperti diuraikan dalam petunjuk produsen alat, dan jika perlu dikalibrasi. Jika perlu pasang penyaring akhir di bawah tingkat terakhir untuk menangkap tiap partikel halus yang mungkin akan keluar dari impaktor riam. Sambungkan pintu induksi dan bagian mulut agar terjadi kedap udara antara bagian pinggiran mulut dan pintu induksi seperti terlihat pada *Gambar 2b*. Pastikan bahwa berbagai tingkat peralatan (lihat *Gambar 2a*) juga disambungkan



*Gambar 2a* Gambaran Skematik prinsip operasi impaktor bertingkat. (Untuk menyederhanakan, digambarkan, suatu "jet" tunggal per tingkat impaktor. Impaktor dengan banyak "jet" pada setiap tingkat berfungsi dengan cara sama)

secara kedap udara untuk mencegah kebocoran. Hidupkan pompa, dan kalibrasi aliran udara melalui sistem tersebut menggunakan pengukur aliran yang sesuai yang disambungkan pada ujung terbuka pintu induksi. Atur katup pengatur kecepatan pada pompa hampa udara hingga mencapai aliran mantap melalui sistem dengan laju yang dibutuhkan, dan pastikan agar laju aliran udara pada seluruh sistem berada dalam batas  $\pm 2\%$  dari laju aliran yang ditetapkan oleh produsen. Pastikan pula agar laju aliran tidak berubah ketika inhaler dihubungkan dengan pintu induksi.

*Prosedur* Persiapkan katup aerosol dengan mengocok kuat inhaler beberapa detik, dan segera buang satu semprotan. Ulangi prosedur ini lima kali. Bilas permukaan atas katup pengukur, bagian mulut, bagian luar dan dalam dari batang katup menggunakan pelarut yang sesuai, dan uapkan sisa pelarut dengan bantuan aliran udara. Timbang saksama bobot wadah inhaler dan catat. Pasang wadah inhaler pada bagian mulut selama beberapa detik. Dengan pengisap hampa udara dalam keadaan jalan pasang bagian mulut pada leher pintu induksi dan segera semprotkan satu dosis ke dalam impaktor riam.

Karena katup pengukur terisi jika batang katup kembali pada posisi istirahat, bebaskan tekanan terhadap bagian bawah wadah segera sesudah satu dosis dikeluarkan. Jika dibutuhkan dosis tambahan sebagai cuplikan, diamkan selama 30 detik sebelum melepaskan pasangan bagian mulut wadah dari leher pintu induksi untuk memungkinkan katup kembali pada suhu kamar. Lepaskan pasangan bagian mulut wadah dari leher pintu induksi. Kocok pasangan bagian mulut wadah dengan kuat, pasang bagian mulut pada leher pintu induksi; dan segera semprotkan dosis selanjutnya. Ulangi hingga jumlah dosis yang dibutuhkan telah disemprotkan.

Sesudah dosis terakhir disemprotkan, lepaskan wadah dari bagian mulut, bilas bagian dalam batang katup dengan pelarut, dan encerkan secara kuantitatif hingga volume yang sesuai. Bilas semua obat dari bagian mulut dengan pelarut yang sesuai untuk obat yang bersangkutan dan encerkan secara kuantitatif hingga volume yang sesuai. Bilas leher pintu induksi dengan pelarut, dan encerkan secara kuantitatif hingga volume yang sesuai. Bongkar impaktor riam, letakkan masing-masing tingkat dan penyaring akhir (jika digunakan) dalam wadah terpisah, dan bilas masing-masing tingkat untuk menghilangkan obat. Encerkan masing-masing secara kuantitatif hingga volume yang sesuai.

Keringkan katup dan bagian dalam batang dengan udara yang dimampatkan, dan timbang wadah untuk menentukan jumlah keseluruhan massa dari formulasi yang dilepas ke dalam impaktor riam dari katup.



Dengan metode analisis yang dinyatakan dalam masing-masing monografi tentukan massa total obat yang ditampung dari tiap komponen.

*Perhitungan Fraksi Terhirup dan Dosis Terhirup*  
Fraksi terhirup dari dosis yang diberikan, atau dengan kata lain, *Median Diameter Massa Aerodinamik* dan *Simpangan Baku Geometrik* dihitung sebagai berikut: Hitung massa total, *A*, obat yang dikeluarkan dari bagian mulut inhaler. Hitung massa total, *R*, dari obat yang ditemukan pada semua tingkat impaktor dan penyaring akhir, jika digunakan, yang menangkap obat yang berada dalam rentang ukuran partikel terhirup untuk obat yang diuji. Ini adalah dosis terhirup. Hitung fraksi terhirup yang akan diberikan dari inhaler kepada pasien menggunakan rumus :

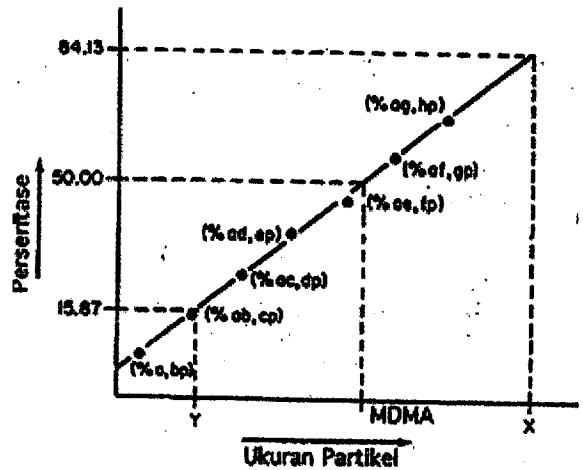
$$\frac{R}{A}$$

*Median Diameter Massa Aerodinamik (MDMA)* dari aerosol yang dikumpulkan dalam impaktor riam. Buat *Tabel Perolehan Persentase Kumulatif-Ukuran Partikel Kurang dari yang Dinyatakan (Tabel 1 dan Tabel 2)* sebagai berikut. Hitung massa total *B*, dari obat yang dikumpulkan dalam impaktor riam. Mulai dengan obat yang terkumpul pada tingkat yang menangkap fraksi ukuran partikel terkecil (yaitu pada penyaring akhir, jika digunakan), dan bagi massa obat ini dengan massa total obat, *B*, yang didapat di atas. Kalikan hasil bagi ini dengan 100 untuk mengubah menjadi persentase.

Masukkan persentase ini pada batas diameter efektif partikel pada tingkat di atasnya dalam susunan impaktor. Ulangi langkah ini untuk tiap tingkat selanjutnya menurut urutan menaik. Untuk setiap tingkat, tambahkan persentase massa yang diperoleh pada tingkat di bawahnya. Plot persentase massa kurang dari ukuran partikel yang dinyatakan terhadap ukuran partikel, di atas kertas logaritma, dan tarik garis lurus terbaik yang menghubungkan titik-titik. (lihat *Gambar 2c*). Jika diperlukan, analisis persamaan regresi dengan pengurangan bobot dapat pula digunakan untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Tentukan ukuran partikel pada waktu garis memotong ordinat 50%. Ukuran partikel ini merupakan perkiraan *Median Diameter Massa Aerodinamika (MMAD)*.

*Perhitungan simpangan baku geometrik* Gunakan kurva logaritmik yang digunakan untuk menghitung *Median Diameter Massa Aerodinamik*. Jika garis tepat benar dengan data, maka distribusi ukuran merupakan log-normal, dan dapat dihitung *Simpangan Baku Geometrik*. Catat ukuran partikel pada waktu garis memotong ordinat 84,13%, nyatakan sebagai ukuran *X*. Catat ukuran partikel pada waktu garis memotong ordinat 15,87%, nyatakan sebagai ukuran *Y*. Hitung *Simpangan Baku Geometrik (SBG)* menggunakan rumus:

$$SBG = \sqrt{\frac{Ukuran X}{Ukuran Y}}$$



Gambar 2c Plot persentase massa lebih kecil dari ukuran terhadap partikel

*Keseimbangan bahan* Untuk memastikan validitas percobaan, hitung keseimbangan bahan sebagai berikut. Hitung massa jumlah, *C*, dari obat yang dikumpulkan (dari batang hingga tingkat akhir impaktor). Tentukan massa jumlah formulasi yang dilepas dari wadah selama percobaan (bobot wadah sebelum pengambilan cuplikan dikurangi bobot sesudah pengambilan cuplikan). Hitung massa, *D*, dari obat yang diperkirakan dilepas dengan mengalikan massa formulasi yang dilepas dengan kadar obat dalam formulasi. Hitung persentase kesetimbangan bahan menggunakan rumus:

$$100 \left( \frac{C}{D} \right)$$

Keseimbangan bahan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%.

Tabel 1 Rangkuman Massa untuk Analisis

Massa dari bilasan batang katup			C
Massa dari bilasan bagian mulut			C
Massa dari bilasan leher	A		C
Massa dari bilasan pintu induksi	A		C
Massa dari impaktor bertingkat n	A	B	C
Jumlah massa	$\sum A$	$\sum B$	$\sum C$

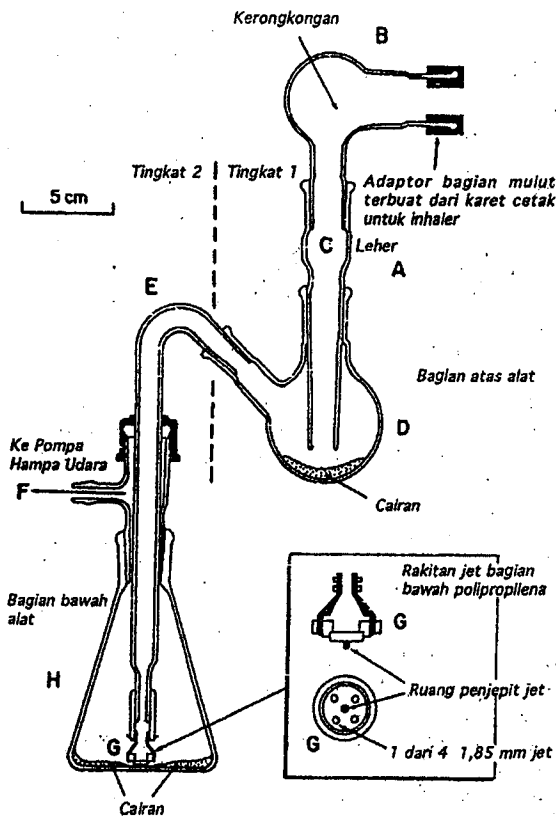
**Impaktor Satu Tingkat Alat 2** Untuk menentukan fraksi ukuran partikel halus dari dosis yang dikeluarkan inhaler dosis terukur dengan cara inhalasi melalui penyemprot yang tersedia gunakan alat yang diuraikan dalam *Gambar 3*, seperti yang dinyatakan dalam masing-masing monografi. Unit komponen pada *Gambar 3* dapat dilihat pada *Tabel 3*.

Bagian bawah alat dirancang sedemikian rupa hingga pada kecepatan aliran udara dalam sistem 60 liter per aliran udara vertikal ditiupkan pada permukaan cairan, membentuk pusaran (atau kantong) agar partikel obat ukuran lebih besar dari 6,4  $\mu\text{m}$  dapat ditangkap secara efektif, mudah diambil untuk penetapan kadar secara kimia.

Sejumlah volume pelarut yang dinyatakan dalam masing-masing monografi, dimasukkan ke dalam labu penampung atas (D) (lihat Gambar 3). Labu penampung bawah, H, dan komponen alat dipasang, pastikan alat terpasang secara vertikal, keseluruhan alat cukup ditopang dan penjepit pada rakitan jet bagian bawah (G), tepat menyentuh dasar labu penampung (H). Sangat penting diperhatikan agar adaptor penyemprot (A), berada pada arah yang tepat sehingga bila unit bagian mulut penyemprot wadah bertekanan yang telah disiapkan, dipasang, akan tepat horizontal terhadap leher (B) sedangkan sumbu wadah berada pada posisi vertikal seperti halnya alat tersebut. Bagian kerongkongan alat harus dapat menyerupai gerakan kerongkongan pasien dan memungkinkan penyemprotan dan pengumpulan dosis terukur yang serupa dengan tujuan penggunaan.

menit, maka batas ukuran efektif partikel aerodinamik (rata-rata) adalah 6,4  $\mu\text{m}$ . Bagian atas alat menggunakan

*Prosedur* Hubungan pompa dengan saluran keluar (F). aliran udara melalui alat, seperti yang terukur pada saluran masuk bagian kerongkongan (B); diatur pada pompa dengan volume  $60 \pm 5$  liter per menit. Siapkan katup pengukuran inhaler pada penyemprot dengan mengocok selama 30 detik, buang satu semprotan dan ulangi langkah ini dalam jangka waktu 5 detik dari langkah pertama. Lepaskan wadah bertekanan dari penyemprot kemudian cuci bagian dalam dan luar permukaan batang katup dan penyemprot, menggunakan pelarut yang sesuai. Sesudah pemasangan penyemprot dan katup dikeringkan, hati-hati pasang lagi wadah bertekanan pada penyemprot. Gunakan penyemprotan udara untuk memastikan semua pelarut menguap. Kocok unit inhaler selama lebih kurang 30 detik, jalankan unit pompa dari alat penampung, dan pasang bagian mulut penyemprot pada bagian mulut adaptor (A).



Gambar 3 Impaktor Satu Tingkat Alat 2

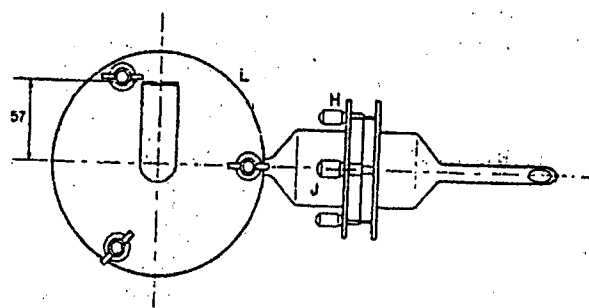
**Tabel 2 Perolehan persentase Kumulatif-Ukuran Partikel Kurang dari yang Dinyatakan [Tabel untuk Impaktor 8 Tingkat S<sub>0</sub> sampai dengan S<sub>7</sub> dengan Penyaring Akhir (PA)]**

Tingkat impaktor	% obat terkumpul pada tiap tingkat	% Massa	Ukuran partikel
PA	(massa pada AF/B) x 100 = a%	a% + 0 = a%	ap
S7	(massa pada S7/B) x 100 = b%	b% + a% = ab%	bp
S6	(massa pada S6/B) x 100 = c%	c% + ab% = ac%	cp
S5	(massa pada S5/B) x 100 = d%	d% + ac% = ad%	dp
S4	(massa pada S4/B) x 100 = e%	e% + ad% = ae%	ep
S3	(massa pada S3/B) x 100 = f%	f% + ae% = af%	fp
S2	(massa pada S2/B) x 100 = g%	g% + af% = ag%	gp
S1	(massa pada S1/B) x 100 = h%	h% + ag% = ah%	hp
S0	(massa pada S0/B) x 100 = i%	i% + ah% = ih% = 100%	

Segera sesudah dipasang, semprotkan inhaler sekali dan lepaskan penyemprot dan wadah dari mulut adaptor. Kocok wadah selama tidak kurang dari 5 detik, pasang kembali pada mulut adaptor dan semprotkan lagi. Ulangi langkah yang sama sebanyak 8 kali lagi. Setelah rentang minimal 5 detik sesudah semprotan ke sepuluh, matikan pompa dan lepaskan peralatan. Menggunakan pelarut yang sesuai, cuci bagian dalam dari tabung saluran masuk (E), menuju labu penampung bawah (H), dan permukaan luar tabung yang masuk ke dalam labu. Kumpulkan cucian pada labu bawah. Pindahkan isi labu H ke dalam labu tentukur, bilas labu dengan pelarut yang sama, masukkan bilasan ke dalam labu tentukur dan encerkan dengan pelarut yang sesuai sampai tanda. Dengan menggunakan metode analisis seperti tertera pada masing-masing monografi, lakukan penetapan kuantitatif bahan aktif dalam larutan ini. Hitung jumlah bahan aktif yang dikumpulkan pada labu penampung bawah pada setiap semprotan melalui penyemprot, dan nyatakan hasil sebagai fraksi atau persentase (berturut-turut *Fraksi Terhirup* atau *Persentase Terhirup*) dari hasil rata-rata yang diperoleh dari penentuan *Keseragaman Kandungan Semprotan. Persentase Terhirup* memenuhi persyaratan seperti tertera pada masing-masing monografi.

**Impaktor Satu Tingkat Alat 3 (Gambar 4a dan Gambar 4b)** Alat terdiri dari satu saluran masuk kerongkongan (D) yang bengkok tegak lurus, dijepitkan dengan labu tumbukan, dengan diameter internal 19 mm, dihubungkan dengan jet tumbukan (E) dan lempeng kaca masir (G). Lempeng tumbukan berada di dalam bejana tumbukan (F) dan lempeng dinaikkan dari dasar bejana dengan empat alat penyangga bentuk segi empat. Pada dinding ruangan diberi pelicin untuk memudahkan sambungan dinding gelas maupun rumah penyaring logam (J). Penutup (L), saluran masuk, dan jet tumbukan dieratkan pada bagian dasar bejana dengan tiga sekrup, bagian ini dapat ditanggalkan untuk keperluan penetapan kadar atau pembersihan. Badan alat ini biasanya dibuat dari aluminium keras, dan rumah penyaring dibuat dari kaca atau baja tahan karat.

Selama digunakan, penyemprotan aerosol (B) diatur posisinya, dan langsung dihubungkan dengan saluran masuk menggunakan alat penyambung yang sesuai (C), sehingga terbentuk sambungan kedap udara antara B, C, dan D.



Gambar 4b Impaktor Satu Tingkat Alat 3: Tampak Atas

- A – Wadah inhalasi bertekanan
- B – Penyemprot
- C – Adaptor
- D – Kerongkongan
- E – Jet
- F – Ruang tumbukan
- G – Lempeng kaca masir
- H – Klem penyaring dari baja tahan karat
- J – Unit penyaring dari kaca atau baja tahan karat
- K – Pompa vakum
- L – Penutup aluminium ruang tumbukan
- M – Cincin karet berbentuk O

*Prosedur* Pasang alat seperti pada Gambar 4a dan Gambar 4b. Letakkan adaptor penyemprot pada bagian ujung kerongkongan sedemikian rupa sehingga apabila dimasukkan ujung mulut penyemprot berada pada sumbu horizontal kerongkongan dan bagian terbuka penyemprot, yang dihubungkan wadah bertekanan berada paling atas dan pada bidang vertikal yang sama seperti bagian lain dari alat. Hubungkan pompa dengan saluran keluar alat, atur laju aliran udara melalui alat, sebagaimana terukur

pada saluran masuk menuju kerongkongan sampai 60±5 liter per menit. Pada laju aliran ini ukuran partikel aerodinamik efektif (rata-rata) adalah 9,8 µm.

Persiapkan katup pengukur dengan mengocok wadah selama 30 detik, buang satu kali semprotan. Sesudah tidak kurang dari 5 detik ulangi pengocokan dan penyemprotan. Lepaskan wadah bertekanan dari penyemprotnya. Cuci penyemprot dan batang katup bagian dalam dan luar menggunakan pelarut yang sesuai.

Keringkan penyemprot dan unit katup menggunakan aliran udara bertekanan untuk memastikan agar semua pelarut hilang dari dinding batang penyemprot dan bagian dalam batang katup. Hati-hati tempatkan kembali wadah bertekanan dalam penyemprot. Kocok selama lebih kurang 30 detik, hidupkan pompa, dan pasangkan ujung bagian mulut penyemprot pada adaptor. Semprot satu kali dengan segera. Sesuai sifat formulasi sediaan, jika perlu lepaskan inhaler yang terpasang dari adaptor, kocok selama tidak kurang dari 5 detik, kembalikan ujung mulut penyemprot pada adaptor, dan semprot lagi. Ulangi langkah penyemprotan tersebut 8 kali, jika perlu lakukan

pengocokan diantara tiap penyemprot. Sesudah semprotan kesepuluh kali, tunggu selama tidak kurang dari 5 detik dan kemudian matikan pompa.

Tanggalkan peralatan, dan cuci unit penyaring dengan melewatkan pelarut yang dinyatakan pada monografi melalui penyaring dan tampung dalam gelas tentukur. Encerkan filtrat hingga tanda. Menggunakan metode analisis seperti dinyatakan dalam monografi, tentukan kandungan bahan aktif dalam larutan. Hitung jumlah bahan aktif yang terkumpul pada unit penyaringan setiap kali penyemprot alat. Jumlah bahan aktif memenuhi persyaratan seperti tertera pada masing-masing monografi.

#### Keseragaman Sediaan

Uji *Keseragaman kandungan* dipersyaratkan untuk inhaler dosis terukur bertekanan dan tidak bertekanan. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi; diberlakukan kriteria persyaratan unit inhaler dosis terukur seperti tertera pada *Keseragaman Sediaan* <911>.

**Tabel 3 Unit Komponen Impaktor Satu Tingkat Alat 2**

Jenis/Bagian	Deskripsi	Kode identifikasi*	Ukuran dalam mm sesuai ISO
1. Adaptor bagian mulut	Adaptor terbuat dari karet cetak untuk bagian mulut penyemprot	A	
2. Kerongkongan	Labu alas bulat yang dimodifikasi Saluran masuk terbuat dari kaca asah Saluran keluar terbuat dari kaca asah berbentuk kerucut	B	50 ml 29 / 32 24 / 29
3. Bagian leher	Adaptor kaca yang dimodifikasi Saluran masuk terbuat dari kaca asah Saluran keluar terbuat dari kaca asah berbentuk kerucut Saluran keluar di bawah dibuat dari tabung kaca berlubang presisi, dan diameter lubang Tabung kaca berlubang pada dindingnya, diameter eksternal	C	24 / 29 24 / 29 14 17
4. Labu penampung atas	Labu alas bulat yang dimodifikasi Sambungan saluran masuk terbuat dari kaca asah, Sambungan saluran keluar terbuat dari kaca asah	D	100 ml 24 / 29 14 / 23
5. Tabung penggandeng	Tabung kaca, berdinding ukuran medium, kerucut kaca asah Bagian lengkung dan bagian vertikal atas, diameter eksternal Bagian vertikal bawah, diameter eksternal	E	14 / 23 13 8
6. Adaptor samping dengan ulir sekrup	Tutup sekrup plastik Cincin karet silikon Pencuci politef Ulir sekrup kaca, ukuran Saluran samping ke pompa vakum diameter lubang	F	28 / 13 28 / 11 28 / 11 28 11



Jenis/Bagian	Deskripsi	Kode identifikasi*	Ukuran dalam mm sesuai ISO
7. Rakitan jet bagian bawah	Penyangga penyaring polipropilen yang dimodifikasi, ** dihubungkan dengan bagian vertikal bawah tabung penggandeng oleh tabung politef Cawan sirkular asetal dengan 4 jet yang dirangkai pada lingkaran dan dengan penjepit jet	G	lihat gambar 2
	Diameter penjepit	G'	10
	Pengaman penjepit		2
			2
8. Labu penampung bawah	Labu Erlenmeyer Saluran masuk terbuat dari kaca asah	H	250 ml 24 / 29

Catatan : \* Keterangan gambar 3  
 \*\* Modifikasi penyaring penyangga Millipore Propilena Swinnex 13 atau penyangga yang setara

## UJI DAYA SERAP <1221>

### Metode I

Siapkan keranjang uji berbentuk silinder dengan bobot tidak lebih dari 3 g, terbuat dari kawat tembaga, berdiameter lebih kurang 0,4 mm, diameter silinder lebih kurang 5 cm dan tinggi 8 cm, dengan jarak antar kawat lebih kurang 2 cm. Ambil beberapa bagian kapas yang telah dimurnikan berbobot  $1 \pm 0,05$  g yang diambil dari 5 tempat yang berbeda dari kemasan dengan cara ditarik, tidak boleh digunting, masukkan kedalam keranjang dan timbang. Gantung keranjang lebih kurang 12 mm diatas permukaan air pada suhu  $25 \pm 1^\circ$ , dan jatuhkan kedalam air. Hitung waktu dalam detik dengan pencatat waktu, sampai kapas terendam sempurna.

Angkat keranjang dari air, biarkan menetes selama 10 detik pada posisi horizontal, yang sama dan letakkan segera dalam wadah bertutup yang sudah ditara dan ditimbang, kurangi bobot keranjang uji dan bobot kapas, sehingga diperoleh bobot air yang diserap.

### Metode II

Menggunakan alat penjepit contoh, lipat cuplikan yang berbobot 1 g menjadi empat (16 lipatan) dan ratakan permukaannya. Untuk kasa ukuran kecil, lipat seperlunya beberapa kali hingga diperoleh lipatan dengan panjang tidak lebih dari 8 cm. Biarkan contoh jatuh perlahan-lahan pada permukaan air bersuhu  $20^\circ$  dalam gelas piala berdiameter tidak kurang dari 12 cm dan berisi air setinggi 10 cm. Hitung waktu yang diperlukan oleh kasa untuk tenggelam dibawah permukaan air, menggunakan pencatat waktu. Ulangi percobaan dua kali menggunakan contoh selanjutnya dan hitung harga rata-rata.

## UJI DISOLUSI <1231>

Uji ini digunakan untuk menentukan kesesuaian dengan persyaratan disolusi yang tertera dalam masing-

masing monografi untuk sediaan yang digunakan secara oral. Pada lampiran ini, satuan sediaan yang dimaksud adalah 1 tablet atau 1 kapsul atau sejumlah yang ditentukan. Dari jenis alat yang diuraikan di sini, gunakan salah satu sesuai dengan yang tertera dalam masing-masing monografi. Bila pada etiket dinyatakan bahwa sediaan bersalut enterik, sedangkan dalam masing-masing monografi, uji disolusi atau uji waktu hancur tidak secara khusus dinyatakan untuk sediaan lepas tunda, prosedur dan interpretasi yang tertera pada sediaan lepas tunda dapat digunakan, kecuali dinyatakan lain pada tiap monografi. Untuk kapsul gelatin keras atau lunak dan tablet salut gelatin, yang tidak memenuhi syarat uji disolusi ulangi uji sebagai berikut:

- Jika media disolusi yang dinyatakan pada masing-masing monografi adalah air atau media dengan pH kurang dari 6,8 gunakan media yang sama dengan penambahan pepsin yang dimurnikan hingga aktivitas tidak lebih dari 750.000 Unit per 1000 ml.
- Untuk media dengan pH 6,8 atau lebih besar, dapat ditambahkan pankreatin hingga aktivitas protease tidak lebih dari 1750 Unit FI per 1000 ml.

**Baku pembanding** Gunakan *Tablet lepas lambat Klorfeniramin Maleat BPFI, Tablet Prednison BPFI*.

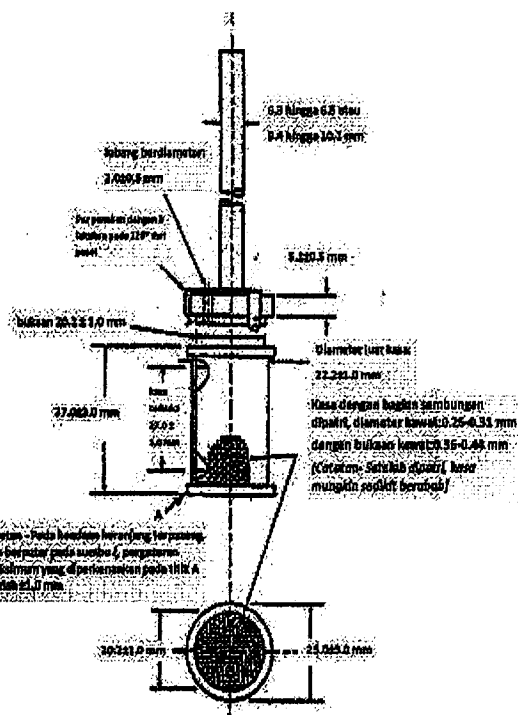
## ALAT

### Alat 1 ( Tipe Keranjang )

Alat terdiri dari sebuah wadah bertutup yang terbuat dari kaca atau bahan transparan lain yang inert; sebuah motor, suatu batang logam yang digerakkan oleh motor; dan keranjang berbentuk silinder. Wadah tercelup sebagian di dalam suatu tangas air yang sesuai, berukuran sedemikian sehingga dapat mempertahankan suhu di dalam wadah pada  $37 \pm 0,5^\circ$  selama pengujian berlangsung dan menjaga agar gerakan air dalam tangas air halus dan tetap. Bagian dari alat, termasuk lingkungan tempat alat diletakkan tidak boleh menimbulkan gerakan,

goncangan atau getaran signifikan yang melebihi gerakan akibat perputaran alat pengaduk. Akan lebih baik apabila alat yang digunakan memungkinkan pengamatan contoh dan alat pengaduk selama pengujian berlangsung. Wadah disolusi berbentuk silinder dengan dasar setengah bola dengan dimensi dan kapasitas sebagai berikut: untuk kapasitas nominal 1000 ml, tinggi 160 mm hingga 210 mm, diameter dalam 98 mm hingga 106 mm; untuk yang berkapasitas nominal 2000 ml, tinggi 280 mm hingga 300 mm, diameter dalam 98 mm hingga 106 mm; untuk kapasitas nominal 4000 ml, tinggi 280 mm hingga 300 mm dan diameter dalam 145 mm hingga 155 mm. Tepi bagian atas wadah melebar. Untuk mencegah penguapan dapat digunakan suatu penutup yang cocok. Batang logam berada pada posisi sedemikian sehingga sumbuinya tidak lebih dari 2 mm pada tiap titik dari sumbu vertikal wadah, berputar dengan halus dan tanpa goyangan yang berarti yang dapat mempengaruhi hasil uji. Suatu alat pengatur kecepatan digunakan sehingga memungkinkan untuk memilih kecepatan putaran yang dikehendaki dan mempertahankan kecepatan seperti tertera dalam masing-masing monografi dalam batas lebih kurang 4%.

Komponen batang logam dan keranjang yang merupakan bagian dari pengaduk terbuat dari baja tahan karat tipe 316 atau bahan lain yang inert sesuai dengan spesifikasi pada Gambar 1. Dapat juga digunakan keranjang berlapis emas setebal 0,0001 inci (2,5 µm). Sediaan dimasukkan ke dalam keranjang yang kering pada tiap awal pengujian. Selama pengujian berlangsung jarak antara bagian dasar dalam wadah dan keranjang adalah  $25 \pm 2$  mm.



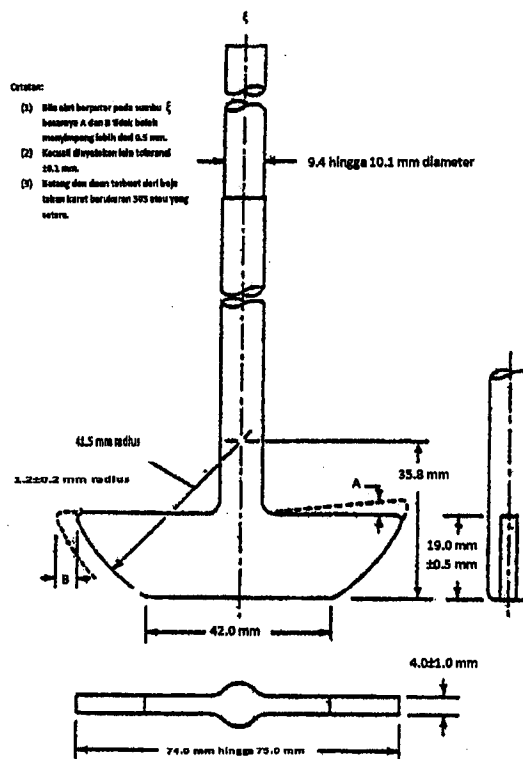
Gambar 1 Pengaduk Bentuk Keranjang

<sup>1</sup>Bahan tidak boleh menyerap, bereaksi, atau mengganggu spesimen yang diuji.

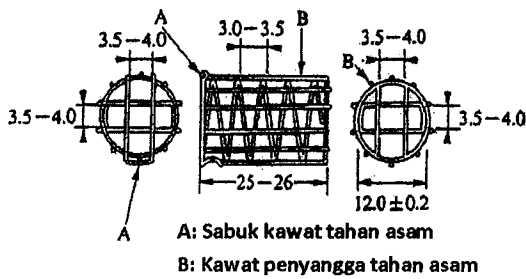
<sup>2</sup>Penutup yang digunakan tetap memberikan keleluasaan untuk memasukkan termometer dan pengambilan cuplikan

### Alat 2 ( Tipe Dayung )

Sama seperti Alat 1, kecuali pada alat ini digunakan dayung yang terdiri dari daun dan batang sebagai pengaduk. Batang berada pada posisi sedemikian sehingga sumbuinya tidak lebih dari 2 mm pada setiap titik dari sumbu vertikal wadah dan berputar dengan halus tanpa goyangan yang berarti. Daun melewati diameter batang sehingga dasar daun dan batang rata. Dayung memenuhi spesifikasi pada Gambar 2. Jarak  $25 \pm 2$  mm antara daun dan bagian dalam dasar wadah dipertahankan selama pengujian berlangsung. Daun dan batang logam yang merupakan satu kesatuan dapat disalut dengan suatu penyalut inert yang sesuai. Sediaan dibiarkan tenggelam ke dasar wadah sebelum dayung mulai diputar. Sepotong kecil bahan yang tidak bereaksi seperti gulungan kawat berbentuk spiral dapat digunakan untuk mencegah mengapungnya sediaan. Alternatif pemberat (sinker) ditunjukkan pada Gambar 2a. Alat lain yang dapat mencegah mengapungnya sediaan dan telah divalidasi dapat digunakan.



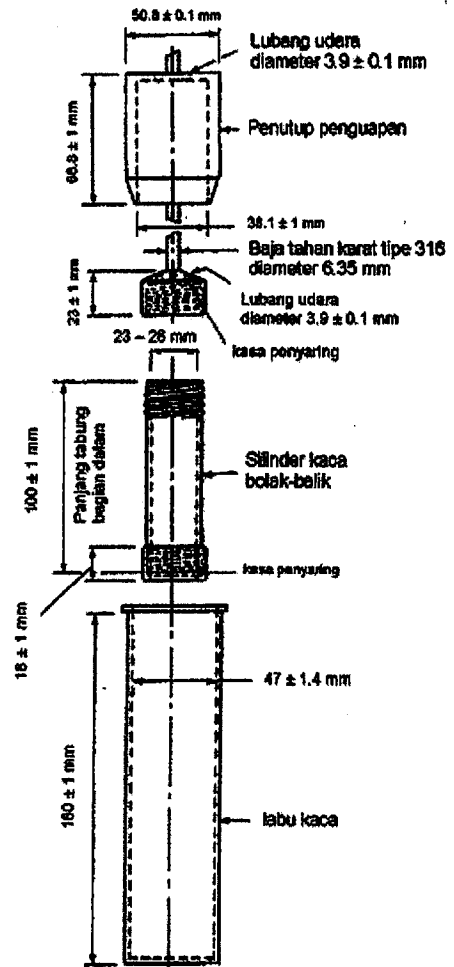
Gambar 2 Pengaduk Bentuk Dayung



Gambar 2a Pemberat (sinker)

Alat 3 ( Silinder kaca Bolak-balik )

Alat terdiri dari satu rangkaian labu kaca beralas rata berbentuk silinder; rangkaian silinder kaca yang bergerak bolak balik; penyambung inert dari baja tahan karat (tipe 316 atau yang setara) dan kasa polipropilen yang terbuat dari bahan yang sesuai, inert dan tidak mengabsorpsi, dirancang untuk menyambungkan bagian atas dan alas silinder yang bergerak bolak balik; dan sebuah motor serta sebuah kemudi untuk menggerakkan silinder bolak balik secara vertikal dalam labu dan, jika perlu silinder dapat digeser secara horizontal dan diarahkan ke deretan labu yang lain. Labu tercelup sebagian di dalam suatu tangas air yang sesuai dengan ukuran sedemikian sehingga dapat mempertahankan suhu di dalam wadah pada  $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$  selama pengujian berlangsung. Bagian dari alat, termasuk lingkungan tempat alat diletakkan tidak boleh menimbulkan gerakan, guncangan atau getaran signifikan di luar yang disebabkan oleh gerakan halus silinder yang bergerak turun-naik. Suatu alat pengatur kecepatan digunakan sehingga memungkinkan untuk memilih dan mempertahankan kecepatan bolak balik seperti tertera dalam monografi dalam batas lebih kurang 5%. Akan lebih baik apabila alat yang digunakan memungkinkan pengamatan contoh dan silinder selama pengujian berlangsung. Wadah dilengkapi dengan penutup yang berada tetap pada tempatnya untuk mencegah penguapan selama pengujian dilakukan. Setiap komponen harus memenuhi ukuran seperti tertera pada Gambar 3 kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi.



Gambar 3 Alat 3 (Silinder kaca bolak balik)

Alat 4 ( Sel yang Dapat Dialiri )

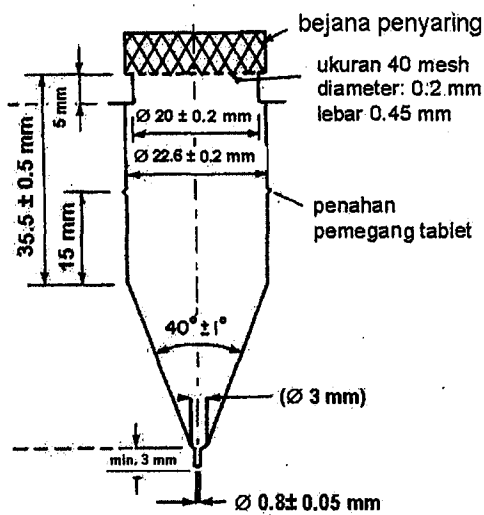
Alat terdiri dari sebuah wadah dan sebuah pompa untuk *Media disolusi*; sebuah sel yang dapat dialiri; sebuah tangas air yang dapat mempertahankan suhu *Media disolusi* pada  $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$  (Gambar 2 dan Gambar 3). Ukuran sel dinyatakan dalam masing-masing monografi.

Pompa mendorong *Media disolusi* ke atas melalui pompa sel. Pompa memiliki kapasitas aliran antara 240 ml per jam dan 960 ml per jam, dengan laju alir baku 4 ml, 8 ml dan 16 ml per menit. Alat memberikan aliran konstan ( $\pm 5\%$  dari laju alir); profil aliran adalah sinusoidal dengan  $120 \pm 10$  pulsa/denyut per menit. Pompa tanpa denyut juga dapat digunakan. Bagaimanapun juga, uji disolusi menggunakan sel yang dapat dialiri harus memperhatikan laju aliran dan denyut.

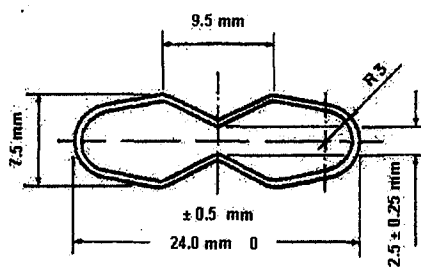
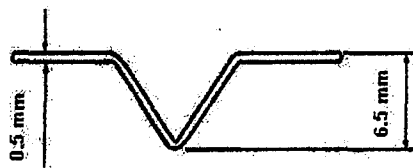
Sel (Gambar 4 dan Gambar 5) terbuat dari bahan yang inert dan transparan, dipasang vertikal dengan suatu sistem penyaring (seperti tertera pada masing-masing monografi) yang mencegah lepasnya partikel tidak larut dari bagian atas sel; diameter sel baku adalah 12 mm dan 22,6 mm; bagian bawah yang meruncing umumnya diisi dengan butiran kaca kecil dengan diameter lebih kurang 5 mm yang diletakkan pada bagian ujung untuk

mencegah cairan masuk ke dalam tabung; terdapat suatu alat pemegang tablet (*Gambar 4a* dan *Gambar 5a*) untuk meletakkan bentuk sediaan tertentu, misalnya tablet tahanan. Sel tercelup dalam sebuah tangas air dan suhu dipertahankan  $37 \pm 0,5^\circ$ .

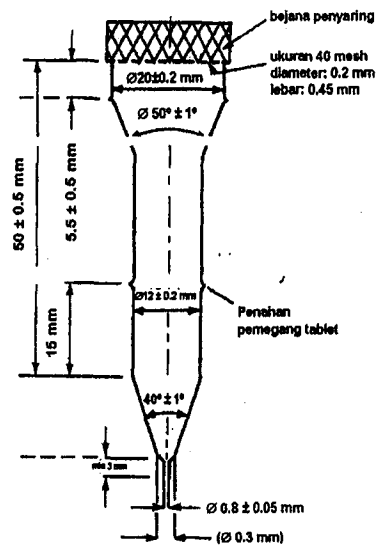
Alat menggunakan mekanisme penjepit dan dua cincin bentuk O untuk menahan sel. Pompa terpisah dari unit disolusi untuk melindungi unit disolusi dari getaran yang berasal dari pompa. Posisi pompa tidak boleh lebih tinggi dari posisi labu penampung. Sambungan pipa harus sependek mungkin. Gunakan pipa polietilena dengan diameter dalam 1,6 mm dan sambungan yang ujungnya melebar dan inert secara kimia.



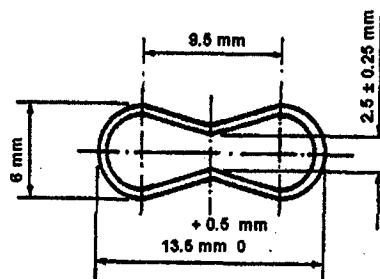
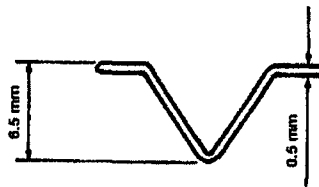
*Gambar 4 Sel besar untuk tablet dan kapsul*



*Gambar 4a Alat pemegang tablet untuk sel besar*



*Gambar 5 Sel kecil untuk tablet dan kapsul*



*Gambar 5a Alat pemegang tablet untuk sel kecil*

### KESESUAIAN ALAT

Penetapan uji kesesuaian dari uji disolusi meliputi kesesuaian terhadap ukuran dan toleransi untuk alat seperti tersebut diatas. Sebagai tambahan, parameter uji kritis dipantau secara periodik selama pengujian, meliputi: volume, suhu media disolusi, kecepatan rotasi (alat 1 dan alat 2), kecepatan turun naik (alat 3) dan laju alir media (alat 4) Penetapan kinerja penerimaan uji disolusi dilakukan secara periodik. Kesesuaian untuk masing masing alat dilakukan dengan verifikasi kinerja.

**Verifikasi kinerja, Alat 1 dan 2** Lakukan pengujian masing-masing wadah menggunakan 1 tablet *Prednison BPF1* sesuai dengan kondisi operasional yang ditentukan.

Alat dianggap sesuai bila hasil yang diperoleh berada dalam rentang yang diperbolehkan seperti tertera pada sertifikat dari tablet yang bersangkutan.

**Verifikasi kinerja, Alat 3** Lakukan pengujian masing-masing wadah menggunakan 1 tablet lepas lambat *Klorfeniramin Maleat BPFI* sesuai dengan kondisi operasional yang ditentukan. Alat dianggap sesuai bila hasil yang diperoleh berada dalam rentang yang diperbolehkan dalam sertifikat dari tablet yang bersangkutan.

## PROSEDUR

### Alat 1 dan Alat 2

#### SEDIAAN LEPAS SEGERA

Masukkan sejumlah volume ( $\pm 1\%$ ) *Media disolusi* seperti tertera pada masing-masing monografi ke dalam wadah pada alat yang sesuai, jalankan pemanas alat hingga *Media disolusi* mencapai suhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ , hentikan alat, angkat termometer. Masukkan 1 unit sediaan ke dalam masing-masing wadah, jaga agar gelembung udara tidak menempel pada permukaan sediaan, dan segera operasikan alat pada kecepatan yang sesuai dengan yang tertera pada masing-masing monografi. Dalam interval waktu yang ditentukan, atau pada tiap waktu yang tertera ambil sejumlah sampel pada daerah pertengahan antara permukaan *Media disolusi* dan bagian atas keranjang atau dayung, tidak kurang dari 1 cm dari dinding wadah [Catatan Bila pengambilan sampel dinyatakan pada beberapa waktu, ganti jumlah volume alikot yang diambil dengan sejumlah volume *Media disolusi* yang sama yang bersuhu  $37^{\circ}$ , atau bila ini dapat menunjukkan bahwa penggantian media tidak diperlukan, lakukan koreksi perubahan volume pada perhitungan. Jaga labu tetap tertutup selama pengujian dan amati suhu pada saat pengadukan sesuai waktu yang dibutuhkan.] Lakukan analisis seperti tertera pada masing-masing monografi, menggunakan metode penetapan kadar yang sesuai. [Catatan : Larutan Uji disaring segera pada saat sampling kecuali proses penyaringan tidak diperlukan. Gunakan penyaring yang inert yang tidak menyebabkan absorpsi zat aktif atau dapat mempengaruhi analisis.] Ulangi pengujian menggunakan sediaan uji tambahan bila diperlukan.

Bila digunakan alat otomatis untuk pengambilan sampel ataupun peralatan yang dimodifikasi, hasil verifikasi alat tersebut harus menunjukkan hasil yang sama dengan alat yang baku seperti tertera pada ketentuan umum.

**Media disolusi** Gunakan media disolusi yang sesuai seperti tertera pada masing-masing monografi. Pengukuran volume dilakukan pada suhu antara  $20^{\circ}$  dan  $25^{\circ}$ . Bila *Media disolusi* adalah suatu larutan dapar, atur pH larutan sedemikian hingga berada dalam batas 0,05 satuan pH yang tertera pada masing-masing monografi. [Catatan Gas terlarut dapat membentuk gelembung yang dapat merubah hasil pengujian. Oleh karena itu gas terlarut harus dihilangkan terlebih dahulu sebelum

*pengujian dimulai. Salah satu metoda deaerasi sebagai berikut: Panaskan media, sambil diaduk perlahan, hingga suhu  $41^{\circ}$ , segera saring menggunakan vakum dengan penyaring berporositas  $0,45\ \mu\text{m}$  atau kurang, dengan pengadukan yang kuat, dan pengadukan yang terus menerus sambil divakum selama lebih kurang 5 menit. Cara deaerasi lain yang sudah divalidasi dalam menghilangkan gas terlarut dapat digunakan.]*

**Waktu** Pengambilan cuplikan harus dilakukan pada waktu yang dinyatakan dengan toleransi  $\pm 2\%$ . Bila dalam spesifikasi hanya terdapat satu waktu, pengujian dapat diakhiri dalam waktu yang lebih singkat bila persyaratan jumlah minimum yang terlarut telah dipenuhi.

**Prosedur untuk Gabungan sampel untuk sediaan lepas segera** Gunakan prosedur ini bila prosedur untuk gabungan sampel dinyatakan pada masing-masing monografi. Lakukan seperti pada *Prosedur* pada *Alat 1* dan *Alat 2* pada sediaan lepas segera. Campur sejumlah sama filtrat larutan dari enam atau duabelas contoh yang diambil, dan gunakan gabungan sampel sebagai sampel uji. Tentukan nilai rata-rata jumlah zat terlarut dalam gabungan sampel.

#### SEDIAAN LEPAS LAMBAT

Lakukan sesuai dengan Sediaan lepas segera.

**Media disolusi** Lakukan seperti pada *Sediaan lepas segera*.

**Waktu** Waktu pengambilan cuplikan umumnya tiga titik, dinyatakan dalam satuan jam.

[Catatan Ganti alikot yang diambil untuk analisis dengan sejumlah volume sama media disolusi yang baru pada suhu yang dinyatakan dalam monografi atau jika dapat ditunjukkan bahwa penggantian media tidak diperlukan, lakukan koreksi terhadap perubahan volume dalam perhitungan. Jaga wadah agar selalu tertutup selama penetapan dan periksa suhu campuran uji pada waktu tertentu.]

#### SEDIAAN LEPAS TUNDA

Gunakan metoda A atau metoda B dan alat yang ditentukan dalam masing-masing monografi. Kecuali dinyatakan lain pengambilan cuplikan harus dilakukan pada waktu yang dinyatakan dengan toleransi  $\pm 2\%$ .

#### Metode A

**Prosedur** (kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi)

*Tahap asam* Masukkan 750 ml asam klorida 0,1 N dalam wadah dan pasang alat. Biarkan media hingga suhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ . Masukkan satu satuan sediaan ke dalam alat,

tutup wadah, jalankan alat pada kecepatan yang tertera pada masing-masing monografi.

Setelah 2 jam pengujian tahap asam, ambil sejumlah cairan alikot dan lanjutkan segera seperti tertera pada tahap dapar.

Lakukan penetapan kadar terhadap alikot menggunakan metoda penetapan yang sesuai, seperti dinyatakan dalam masing-masing monografi.

*Tahap dapar [Catatan Lakukan penambahan dapar dan pengaturan pH dalam waktu tidak lebih dari 5 menit.]*

Jalankan alat pada kecepatan seperti tertera pada monografi, tambahkan 250 ml larutan *natrium fosfat berbasa tiga 0,2 M* yang bersuhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$  ke dalam labu. Jika perlu atur pH hingga  $6,8\pm 0,05$  dengan penambahan *asam klorida 2 N* atau *natrium hidroksida 2N*. Lanjutkan pengujian selama 45 menit atau selama waktu seperti dinyatakan pada masing-masing monografi. Pada akhir periode pengujian, ambil sejumlah cairan alikot. Lakukan penetapan kadar terhadap alikot menggunakan metoda penetapan yang sesuai seperti dinyatakan dalam masing-masing monografi.

Penetapan dapat diakhiri dalam periode yang lebih singkat dari yang dinyatakan untuk *Tahap dapar* bila persyaratan jumlah minimum terlarut dipenuhi pada waktu lebih awal.

#### **Metode B**

**Prosedur** (kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi)

*Tahap asam* Masukkan 1000 ml *asam klorida 0,1 N* dalam labu dan pasang alat. Biarkan media hingga suhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ . Masukkan satu unit sediaan ke dalam alat, tutup wadah, jalankan alat pada kecepatan yang tercantum dalam masing-masing monografi.

Setelah 2 jam pengujian tahap asam, ambil sejumlah cairan alikot dan lanjutkan segera seperti tercantum pada tahap dapar.

Lakukan penetapan kadar terhadap alikot menggunakan metoda penetapan kadar yang sesuai, seperti yang tercantum pada masing-masing monografi.

*Tahap dapar [Catatan Pada tahap ini gunakan dapar yang terlebih dahulu dipanaskan hingga suhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ ].* Buang larutan asam dari labu, tambahkan ke dalam labu 1000 ml dapar fosfat pH 6,8, yang dibuat dengan cara mencampur asam klorida 0,1 N dengan natrium fosfat berbasa tiga 0,2 M (3:1), jika perlu atur pH hingga  $6,8\pm 0,05$  dengan penambahan asam klorida 2 N atau natrium hidroksida 2 N. *[Catatan Penggantian media disolusi dapat juga dilakukan dengan mengeluarkan labu berisi larutan asam dari alat dan menggantinya dengan labu lain yang berisi larutan dapar dan memindahkan sediaan uji ke dalam labu yang berisi larutan dapar tersebut.]*

Jalankan kembali alat selama 45 menit atau selama waktu yang dinyatakan dalam masing-masing monografi. Pada akhir periode pengujian, ambil sejumlah cairan alikot, lakukan penetapan kadar terhadap alikot

menggunakan metoda penetapan yang sesuai seperti dinyatakan dalam masing-masing monografi.

Penetapan dapat diakhiri dalam periode yang lebih singkat dari yang dinyatakan untuk *Tahap dapar* bila persyaratan jumlah minimum terlarut dipenuhi pada waktu lebih awal.

#### **Alat 3**

#### **SEDIAAN LEPAS SEGERA**

Masukkan sejumlah volume media disolusi ke dalam labu, pasang alat, biarkan media disolusi hingga suhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ , keluarkan termometer dari alat. Masukkan satu unit sediaan pada masing-masing dari enam silinder, hati-hati jangan sampai ada gelembung udara pada permukaan tiap unit sediaan, segera jalankan alat seperti tertera pada masing-masing monografi. Pada gerakan turun naik, silinder bergerak melalui jarak total 9,9 cm hingga 10,1 cm. Dalam selang waktu yang dinyatakan atau pada setiap waktu yang dinyatakan, naikkan silinder, dan ambil sebagian larutan uji dari tengah-tengah antara permukaan media disolusi dan alas masing-masing labu. Lakukan penetapan kadar seperti tertera pada masing-masing monografi. Jika perlu, ulangi pengujian dengan sediaan lain.

**Media disolusi** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

**Waktu** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

#### **SEDIAAN LEPAS LAMBAT**

Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 3*.

#### **Media disolusi**

Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas lambat* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

**Waktu** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas lambat* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

#### **Alat 4**

#### **SEDIAAN LEPAS SEGERA**

Masukkan butiran kaca ke dalam sel seperti yang dinyatakan dalam masing-masing monografi. Masukkan 1 unit sediaan di atas butiran atau pada sebuah kawat pembawa jika dinyatakan dalam monografi. Pasang bagian atas penyaring, dan kencangkan bagian-bagiannya dengan penjepit yang sesuai. Masukkan *Media disolusi* yang sebelumnya sudah dipanaskan hingga suhu  $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$  dengan pompa melalui bagian dasar sel dengan laju alir seperti tertera pada masing-masing monografi dan ukur dengan ketelitian 5%. Kumpulkan larutan tiap fraksi pada tiap waktu yang ditentukan. Lakukan penetapan kadar

seperti tertera pada masing-masing monografi. Jika perlu ulangi pengujian dengan sediaan lain.

**Media disolusi** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

**Waktu** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

**SEDIAAN LEPAS LAMBAT**

Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 4*.

**Media disolusi** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 4*.

**Waktu** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas segera* pada *Alat 4*.

**SEDIAAN LEPAS TUNDA**

Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas tunda*, pada *Alat 1* dan *Alat 2* menggunakan media yang telah ditentukan.

**Waktu** Lakukan seperti tertera pada *Sediaan lepas tunda* pada *Alat 1* dan *Alat 2*.

**INTERPRETASI  
Sediaan Lepas Segera**

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dipenuhi bila jumlah zat aktif terlarut dari unit sediaan yang diuji sesuai dengan *Tabel Penerimaan 1*. Lanjutkan pengujian sampai tiga tahap kecuali bila hasil pengujian memenuhi tahap  $S_1$  atau  $S_2$ . Harga  $Q$  adalah jumlah zat aktif yang terlarut seperti tertera pada masing-masing monografi, dinyatakan dalam persentase kadar pada etiket, angka 5%, 15%, dan 25% dalam tabel adalah persentase terhadap kadar yang tertera pada etiket, dengan demikian mempunyai arti yang sama dengan  $Q$ .

**Tabel Penerimaan 1**

Tahap	Jumlah yang diuji	Kriteria Penerimaan
$S_1$	6	Tiap unit sediaan tidak kurang dari $Q + 5\%$
$S_2$	6	Rata-rata dari 12 unit ( $S_1 + S_2$ ) adalah sama dengan atau lebih besar dari $Q$ , dan tidak satu unitpun yang lebih kecil dari $Q - 15\%$
$S_3$	12	Rata-rata dari 24 unit ( $S_1 + S_2 + S_3$ ) adalah sama atau lebih besar dari $Q$ , tidak lebih dari 2 unit sediaan yang lebih kecil dari $Q - 15\%$ dan tidak satu unitpun yang lebih kecil dari $Q - 25\%$ .

**Sediaan lepas segera gabungan sampel** Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dipenuhi bila jumlah zat aktif terlarut dari *Gabungan sampel* sesuai dengan *Tabel Penerimaan 2*. Lanjutkan pengujian sampai tiga tahap kecuali bila hasil pengujian memenuhi tahap  $S_1$  atau  $S_2$ . Harga  $Q$  adalah jumlah zat aktif yang terlarut seperti tertera pada masing-masing monografi, dinyatakan dalam persentase terhadap kadar yang tertera pada etiket.

**Tabel Penerimaan 2 Gabungan sampel**

Tahap	Jumlah yang diuji	Kriteria Penerimaan
$S_1$	6	Rata-rata jumlah zat terlarut tidak kurang dari $Q + 10\%$
$S_2$	6	Rata-rata jumlah zat terlarut ( $S_1 + S_2$ ) adalah sama dengan atau lebih besar dari $Q + 5\%$
$S_3$	12	Rata-rata jumlah zat terlarut ( $S_1 + S_2 + S_3$ ) adalah sama atau lebih besar dari $Q$

**Sediaan Lepas Lambat**

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dipenuhi bila jumlah zat aktif terlarut dari unit sediaan yang diuji sesuai dengan *Tabel Penerimaan 3*. Lanjutkan pengujian sampai tiga tahap kecuali bila hasil pengujian memenuhi tahap  $L_1$  atau  $L_2$ . Harga  $Q$  adalah jumlah zat aktif yang terlarut seperti tertera pada masing-masing monografi, dinyatakan dalam persentase terhadap kadar yang tertera pada etiket.  $Q$  adalah nilai rata-rata dari  $Q_i$ , jumlah zat aktif yang terlarut pada tiap-tiap dosis per interval waktu. Jika dalam monografi menyatakan lebih dari satu rentang waktu, kriteria penerimaan pada *Tabel Penerimaan 3* berlaku pada masing-masing rentang waktu.

**Tabel Penerimaan 3**

Tahap	Jumlah yang diuji	Kriteria Penerimaan
$L_1$	6	Tidak satu nilai pun diluar rentang penerimaan yang dinyatakan dan tidak satupun nilai yang kurang dari jumlah yang dinyatakan pada waktu penetapan akhir.
$L_2$	6	Nilai rata-rata dari 12 unit sediaan ( $L_1 + L_2$ ) terletak dalam tiap rentang penerimaan yang dinyatakan dan tidak kurang dari jumlah yang dinyatakan pada waktu pengujian akhir; tidak satupun yang lebih 10% dari jumlah yang tertera pada etiket diluar tiap rentang penerimaan yang dinyatakan; dan tidak ada satupun yang lebih dari 10% dari jumlah yang tertera pada etiket di bawah jumlah yang dinyatakan pada waktu pengujian akhir.

L <sub>3</sub>	12	Nilai rata-rata dari 24 unit sediaan (L <sub>1</sub> +L <sub>2</sub> +L <sub>3</sub> ) terletak dalam tiap rentang penerimaan yang dinyatakan dan tidak kurang dari jumlah yang dinyatakan pada waktu pengujian akhir; tidak lebih dari 2 dari 24 unit sediaan yang diuji lebih dari 10% dari jumlah yang tertera pada etiket di luar rentang yang dinyatakan; tidak lebih dari 2 dari 24 unit sediaan yang diuji lebih dari 10% dari jumlah yang tertera pada etiket di bawah jumlah yang dinyatakan pada waktu pengujian akhir; dan tidak satupun dari keseluruhan unit yang diuji lebih dari 20% dari jumlah yang tertera pada etiket diluar tiap rentang yang dinyatakan, atau lebih dari 20% dari jumlah yang tertera pada etiket di bawah jumlah yang dinyatakan pada waktu pengujian akhir.
----------------	----	--

**Sediaan Lepas Tunda**

**Tahap asam**

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan tahap tersebut dipenuhi jika jumlah zat aktif terlarut berdasarkan persentase kandungan yang tertera pada etiket sesuai dengan *Tabel Penerimaan 4*. Lakukan penetapan sampai tahap 3 kecuali jika kedua tahap asam dan dapar memenuhi persyaratan pada tahap sebelumnya.

**Tabel Penerimaan 4**

Tahap	Jumlah yang diuji	Kriteria Penerimaan
A <sub>1</sub>	6	Tidak satupun jumlah zat aktif yang terlarut melebihi 10%.
A <sub>2</sub>	6	Rata-rata jumlah zat aktif yang terlarut dari 12 unit sediaan (A <sub>1</sub> +A <sub>2</sub> ) tidak lebih dari 10% dan tidak satu unitpun dari jumlah zat aktif yang terlarut lebih dari 25%.
A <sub>3</sub>	12	Rata-rata jumlah zat aktif yang terlarut dari 24 unit sediaan (A <sub>1</sub> +A <sub>2</sub> + A <sub>3</sub> ) tidak lebih dari 10%, dan tidak satupun dari jumlah zat aktif terlarut lebih dari 25%.

**Tahap dapar**

Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dipenuhi jika jumlah zat aktif terlarut dari unit sediaan uji memenuhi *Tabel Penerimaan 5*. Lakukan penetapan hingga tahap 3 kecuali hasil pada tahap sebelumnya telah memenuhi. Nilai Q pada *Tabel Penerimaan 5* adalah 75% terlarut, kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi. Nilai Q yang

dinyatakan pada masing-masing monografi adalah jumlah total zat aktif terlarut pada kedua tahap asam dan tahap dapar, dinyatakan dalam persen terhadap kadar yang tertera pada etiket. Nilai 5%, 15% dan 25% pada *Tabel Penerimaan 5* adalah persentase terhadap kadar yang tertera pada etiket hingga nilai-nilai ini dan Q memiliki satuan yang sama.

**Tabel Penerimaan 5**

Tahap	Jumlah yang diuji	Kriteria Penerimaan
B <sub>1</sub>	6	Tiap unit sediaan tidak kurang dari Q + 5%.
B <sub>2</sub>	6	Rata-rata dari 12 unit sediaan (B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> ) sama atau lebih besar dari Q dan tidak satu unit sediaan pun yang kurang dari Q-15%.
B <sub>3</sub>	12	Rata-rata dari 24 unit sediaan (B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> + B <sub>3</sub> ) sama atau lebih besar dari Q, tidak lebih dari 2 unit sediaan kurang dari Q-15% dan tidak satu unitpun yang kurang dari Q-25%.

**UJI SALEP MATA <1241>**

**Bahan tambahan** Bahan-bahan yang sesuai boleh ditambahkan pada salep mata untuk meningkatkan kestabilan atau kegunaan, kecuali jika dilarang pada masing-masing monografi dengan syarat tidak berbahaya dalam jumlah yang diberikan dan tidak boleh mempengaruhi efek terapi atau respons pada penetapan kadar dan pengujian yang spesifik. Pada sediaan untuk penggunaan mata, tidak boleh ditambahkan zat warna, semata-mata untuk tujuan pewarnaan pada sediaan akhir.

Bahan atau campuran bahan yang sesuai untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme harus ditambahkan ke dalam salep mata yang dikemas dalam wadah untuk pemakaian ganda, tanpa memperhatikan metode sterilisasinya, kecuali jika disebutkan dalam masing-masing monografi, atau formula tersebut bersifat bakteriostatik. Bahan tersebut digunakan dalam kadar tertentu yang akan mencegah pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme dalam salep mata seperti tertera pada *Uji Efektivitas Pengawet Antimikroba <61>* dan *Kandungan Zat Antimikroba <441>*. Proses sterilisasi dilakukan pada produk akhir atau semua bahan jika salep dibuat dengan cara aseptis, seperti tertera pada *Bahan Tambahan dalam Ketentuan Umum dan Sterilisasi dan Jaminan Sterilitas Bahan Compendia <1371>*. Salep mata dikemas dalam wadah dosis tunggal, tidak memerlukan tambahan bahan antibakteri; tetapi, harus tetap memenuhi syarat *Uji Sterilitas <71>*.

**Wadah** Wadah termasuk penutup untuk salep mata tidak boleh berinteraksi secara fisika atau kimia dalam bentuk apapun dengan sediaan yang dapat mengubah kekuatan, mutu atau kemurniaan di luar persyaratan resmi pada kondisi umum atau biasa pada saat penanganan,



pengiriman, penyimpanan, penjualan dan penggunaan seperti tertera pada *Wadah untuk artikel yang ditujukan pada penggunaan Sediaan Mata dalam Ketentuan Umum*.

**Partikel logam** Lakukan *Prosedur* seperti tertera pada *Penetapan Partikel Logam dalam Salep Mata <1061>*.

**Kebocoran** Pilih 10 tube salep mata, dengan segel khusus jika disebutkan. Bersihkan dan keringkan baik-baik permukaan luar tiap tube dengan kain penyerap. Letakkan tube pada posisi horizontal di atas lembaran kertas penyerap dalam oven dengan suhu yang di atur pada  $60^{\circ}\pm 3^{\circ}$  selama 8 jam. Tidak boleh terjadi kebocoran yang berarti selama atau setelah pengujian selesai (Abaikan bekas salep yang diperkirakan berasal bagian luar dimana terdapat lipatan dari tube atau dari bagian ulir tutup tube). Jika terdapat bocoran pada satu tube tetapi tidak lebih dari satu tube; ulangi pengujian dengan tambahan 20 tube salep. Pengujian memenuhi syarat jika tidak ada satupun kebocoran diamati dari 10 tube uji pertama, atau kebocoran yang diamati tidak lebih dari satu dari 30 tube yang diuji.

#### UJI WAKTU HANCUR <1251>

Uji ini dimaksudkan untuk menetapkan kesesuaian batas waktu hancur yang tertera dalam masing-masing monografi, kecuali pada etiket dinyatakan bahwa tablet atau kapsul digunakan sebagai tablet isap atau dikunyah atau dirancang untuk pelepasan kandungan obat secara bertahap dalam jangka waktu tertentu atau melepaskan obat dalam dua periode berbeda atau lebih dengan jarak waktu yang jelas di antara periode pelepasan tersebut. Tetapkan jenis sediaan yang akan diuji dari etiket serta dari pengamatan dan gunakan prosedur yang tepat untuk 6 unit sediaan atau lebih.

Uji waktu hancur tidak menyatakan bahwa sediaan atau bahan aktifnya terlarut sempurna. Sediaan dinyatakan hancur sempurna bila sisa sediaan, yang tertinggal pada kasa alat uji merupakan massa lunak yang tidak mempunyai inti yang jelas. Kecuali bagian dari penyalut atau cangkang kapsul yang tidak larut.

#### Alat

Alat terdiri atas suatu rangkaian keranjang, gelas piala berukuran 1000 ml, dengan tinggi 138 - 160 mm dan diameter dalam 97 - 115 mm, thermostat untuk memanaskan cairan media antara  $35^{\circ}$  -  $39^{\circ}$  dan alat untuk menaikturunkan keranjang dalam cairan media pada frekuensi yang tetap antara 29 - 32 kali per menit melalui jarak tidak kurang dari 53 mm dan tidak lebih dari 57 mm. Volume cairan dalam wadah sedemikian sehingga pada titik tertinggi gerakan ke atas, kawat kasa berada paling sedikit 15 mm di bawah permukaan cairan dan pada gerakan ke bawah berjarak tidak kurang dari 25 mm dari dasar wadah. Waktu yang diperlukan bergerak ke atas adalah sama dengan waktu yang diperlukan untuk

bergerak ke bawah dan perubahan pada arah gerakan merupakan perubahan yang halus, bukan gerakan yang tiba-tiba dan kasar. Rangkaian keranjang bergerak vertikal sepanjang sumbunya, tanpa gerakan horizontal yang berarti atau gerakan sumbu dari posisi vertikalnya.

**Rangkaian keranjang** Rangkaian keranjang terdiri atas 6 tabung transparan yang kedua ujungnya terbuka, masing-masing dengan panjang  $77,5\pm 2,5$  mm, diameter dalam 20,7 - 23 mm dan tebal dinding 1,0 - 2,8 mm, tabung-tabung ditahan pada posisi vertikal oleh dua lempengan plastik, masing-masing dengan diameter 88 - 92 mm, tebal 5 - 8,5 mm, dengan enam buah lubang, masing-masing berdiameter 22 - 26 mm dan berjarak sama dari pusat lempengan maupun antara lubang satu dengan lainnya. Pada permukaan bawah lempengan dipasang suatu kasa baja tahan karat berukuran 10 mesh nomor 23 (0,025 inci). Bagian-bagian alat dirangkai dan dikencangkan oleh tiga buah baut melalui kedua lempengan plastik. Suatu alat pengait dipasang pada alat yang menaikturunkan rangkaian keranjang melalui satu titik pada sumbunya, digunakan untuk menggantung rangkaian keranjang.

Rancangan rangkaian keranjang dapat sedikit berbeda asalkan spesifikasi tabung kaca dan ukuran kasa dipertahankan.

**Cakram** Penggunaan cakram hanya diijinkan apabila tertera pada masing-masing monografi. Tiap tabung mempunyai cakram berbentuk silinder dengan perforasi, tebal  $9,5\pm 0,15$  mm dan diameter  $20,7\pm 0,15$  mm. Cakram dibuat dari bahan plastik transparan yang sesuai, mempunyai bobot jenis antara 1,18 - 1,20. Terdapat lima lubang berukuran  $2\pm 0,1$  mm yang tembus dari atas ke bawah, salah satu lubang melalui sumbu silinder, sedangkan lubang lain paralel terhadapnya dengan radius jarak  $6\pm 0,2$  mm. Pada sisi silinder terdapat 4 lekukan dengan jarak sama berbentuk V yang tegak lurus terhadap ujung silinder. Sisi paralel trapesoid pada dasar mempunyai panjang  $1,6\pm 0,1$  mm dan ujung bawah terletak 1,5 - 1,8 mm dari keliling silinder. Sisi paralel pada bawah silinder mempunyai panjang  $9,4\pm 0,2$  mm, dan tengahnya terletak pada kedalaman  $2,6\pm 0,1$  mm dari keliling silinder. Seluruh permukaan cakram licin. Jika penggunaan cakram dicantumkan dalam masing-masing monografi, tambahkan cakram pada masing-masing tabung dan lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur*.

#### Prosedur

**Tablet tidak bersalut** Masukkan 1 tablet pada masing-masing 6 tabung dari keranjang, jika dinyatakan masukkan 1 cakram pada tiap tabung. Jalankan alat, gunakan air bersuhu  $37^{\circ}\pm 2^{\circ}$  sebagai media kecuali dinyatakan menggunakan cairan lain dalam masing-masing monografi. Pada akhir batas waktu seperti tertera pada monografi, angkat keranjang dan amati semua tablet: semua tablet harus hancur sempurna. Bila 1 atau 2 tablet tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12

tablet lainnya: tidak kurang 16 dari 18 tablet yang diuji harus hancur sempurna.

**Tablet bersalut bukan enterik**

Lakukan pengujian dengan prosedur seperti tertera pada *Tablet tidak bersalut*, amati tablet dalam batas waktu yang dinyatakan dalam masing-masing monografi.

**Tablet salut enterik** Masukkan 1 tablet pada masing-masing 6 tabung dari keranjang, bila tablet mempunyai salut gula yang dapat larut, celupkan keranjang dalam air pada suhu kamar selama 5 menit.

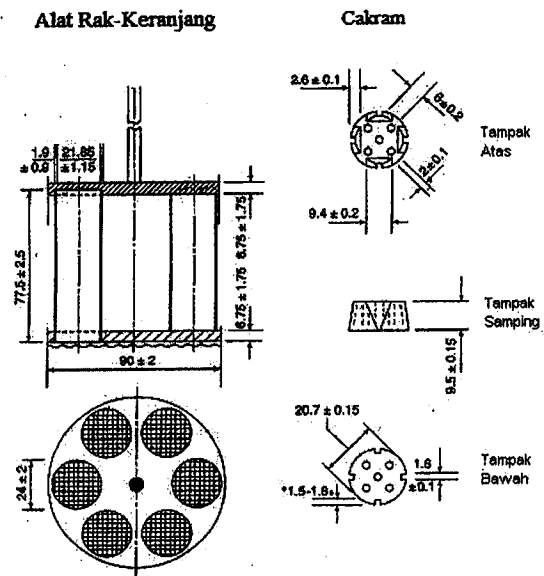
Tanpa menggunakan cakram jalankan alat, gunakan cairan lambung buatan LP bersuhu  $37^{\circ}\pm 2^{\circ}$  sebagai media. Setelah alat dijalankan selama satu jam, angkat keranjang dan amati semua tablet: tablet tidak hancur, retak, atau menjadi lunak. Jalankan alat, gunakan cairan usus buatan LP bersuhu  $37^{\circ}\pm 2^{\circ}$  sebagai media, selama jangka waktu yang dinyatakan dalam masing-masing monografi. Angkat keranjang dan amati semua tablet: semua tablet hancur sempurna. Bila 1 tablet atau 2 tablet tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12 tablet lainnya: tidak kurang 16 dari 18 tablet yang diuji harus hancur sempurna.

**Tablet bukal** Lakukan pengujian dengan prosedur seperti tertera pada *Tablet tidak bersalut*. Setelah 4 jam, angkat keranjang dan amati semua tablet: semua tablet harus hancur. Bila 1 tablet atau 2 tablet tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12 tablet lainnya: tidak kurang 16 dari 18 tablet yang diuji harus hancur sempurna.

**Tablet sublingual** Lakukan pengujian dengan prosedur seperti tertera pada *Tablet tidak bersalut*. Amati tablet dalam batas waktu yang dinyatakan dalam masing-masing monografi: semua tablet harus hancur. Bila 1 tablet atau 2 tablet tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12 tablet lainnya: tidak kurang 16 dari 18 tablet yang diuji harus hancur sempurna.

**Kapsul gelatin keras** Lakukan pengujian dengan prosedur seperti tertera pada *Tablet tidak bersalut*, tanpa menggunakan cakram. Sebagai pengganti cakram digunakan suatu kasa berukuran 10 mesh seperti yang diuraikan pada rangkaian keranjang, kasa ini ditempatkan pada permukaan lempengan atas dari rangkaian keranjang. Amati kapsul dalam batas waktu yang dinyatakan dalam masing-masing monografi, semua kapsul hancur, kecuali bagian dari cangkang kapsul. Bila 1 kapsul atau 2 kapsul tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12 kapsul lainnya: tidak kurang 16 dari 18 kapsul yang diuji harus hancur sempurna.

**Kapsul gelatin lunak** Lakukan pengujian dengan prosedur seperti tertera pada *Kapsul gelatin keras*.



**VOLUME TERPINDAHKAN <1261>**

Uji berikut dirancang sebagai jaminan bahwa cairan oral yang dikemas dengan volume yang tertera pada etiket tidak lebih dari 250 ml, yang tersedia dalam bentuk sediaan cair atau sediaan cair yang dikonstitusi dari bentuk padat dengan penambahan bahan pembawa tertentu dengan volume yang ditentukan, jika dipindahkan dari wadah asli, akan memberikan volume terpindahkan sediaan seperti tertera pada etiket. Uji ini tidak ditujukan untuk sediaan wadah dosis tunggal, jika dalam monografi tertera *Keseragaman sediaan <911>*.

**PERSIAPAN UJI**

Untuk penetapan volume terpindahkan, pilih tidak kurang dari 30 wadah, dan selanjutnya ikuti prosedur berikut untuk bentuk sediaan tersebut.

Larutan oral, suspensi oral dan bentuk sediaan cairan oral lain Kocok isi dari 10 wadah satu persatu.

Serbuk dalam wadah dosis ganda yang mencantumkan penandaan volume untuk cairan oral yang dihasilkan bila serbuk dikonstitusi dengan sejumlah pembawa seperti tertera pada etiket Konstitusi 10 wadah dengan volume pembawa seperti tertera pada etiket, ukur saksama, dan kocok satu per satu.

**PROSEDUR**

Tuang perlahan-lahan isi dari tiap wadah ke dalam gelas ukur tidak lebih dari dua setengah kali volume yang diukur dan telah dikalibrasi, secara hati-hati untuk menghindari pembentukan gelembung udara pada waktu penuangan dan diamkan selama tidak lebih dari 30 menit untuk wadah dosis ganda dan 5 menit untuk wadah dosis tunggal kecuali dinyatakan lain dalam monografi.

Jika telah bebas dari gelembung udara, ukur volume dari tiap campuran. Untuk sediaan volume kecil yang dikemas dalam wadah dosis tunggal, volume dapat dihitung sebagai berikut: (1) keluarkan isi dari wadah ke dalam wadah yang sesuai dan telah ditara (biarkan mengalir sampai tidak lebih dari 5 detik); (2) tentukan bobot isi dari wadah; dan (3) hitung volume setelah penetapan bobot jenis.

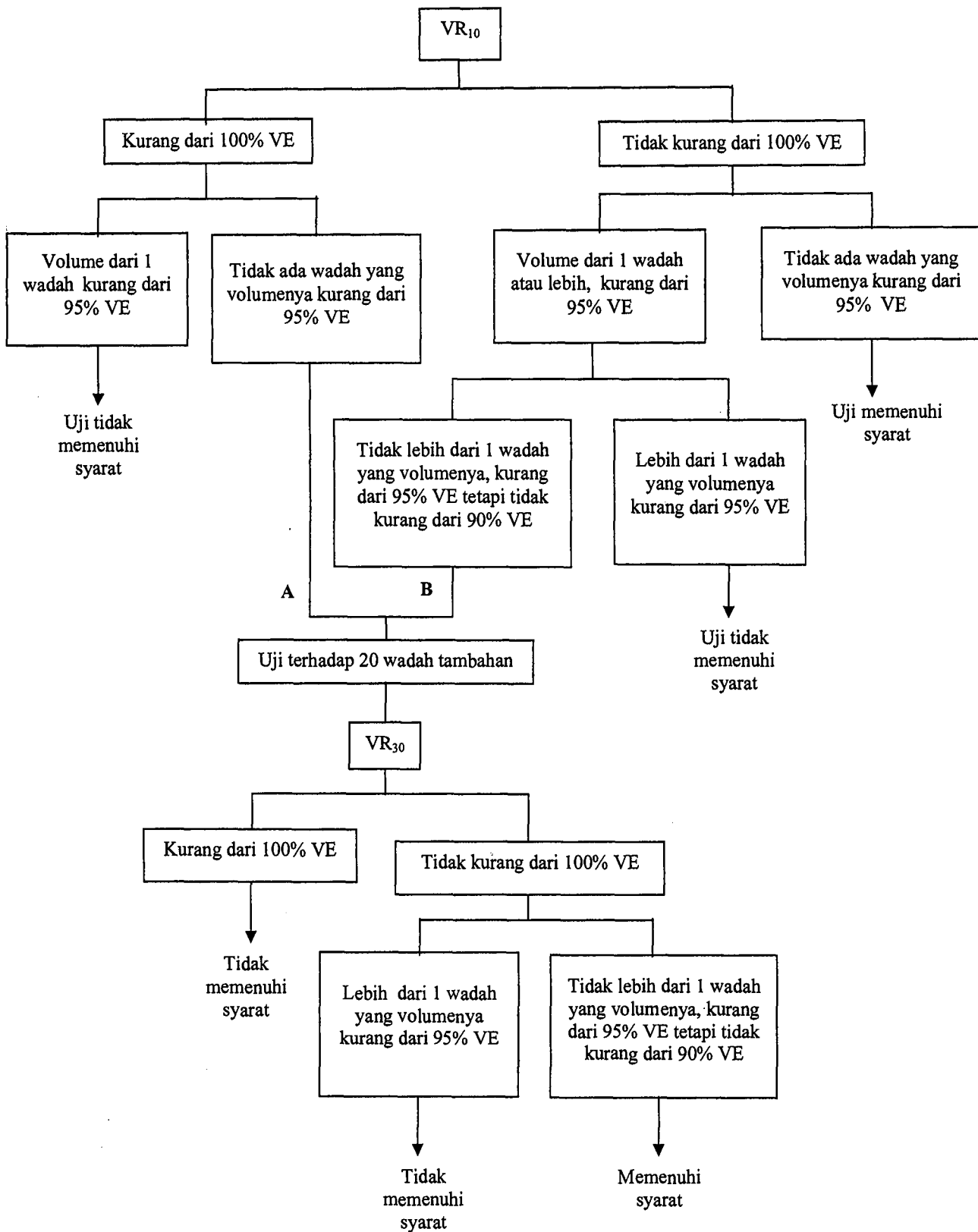
#### KRITERIA PENERIMAAN

Gunakan kriteria berikut untuk menentukan pemenuhan syarat uji.

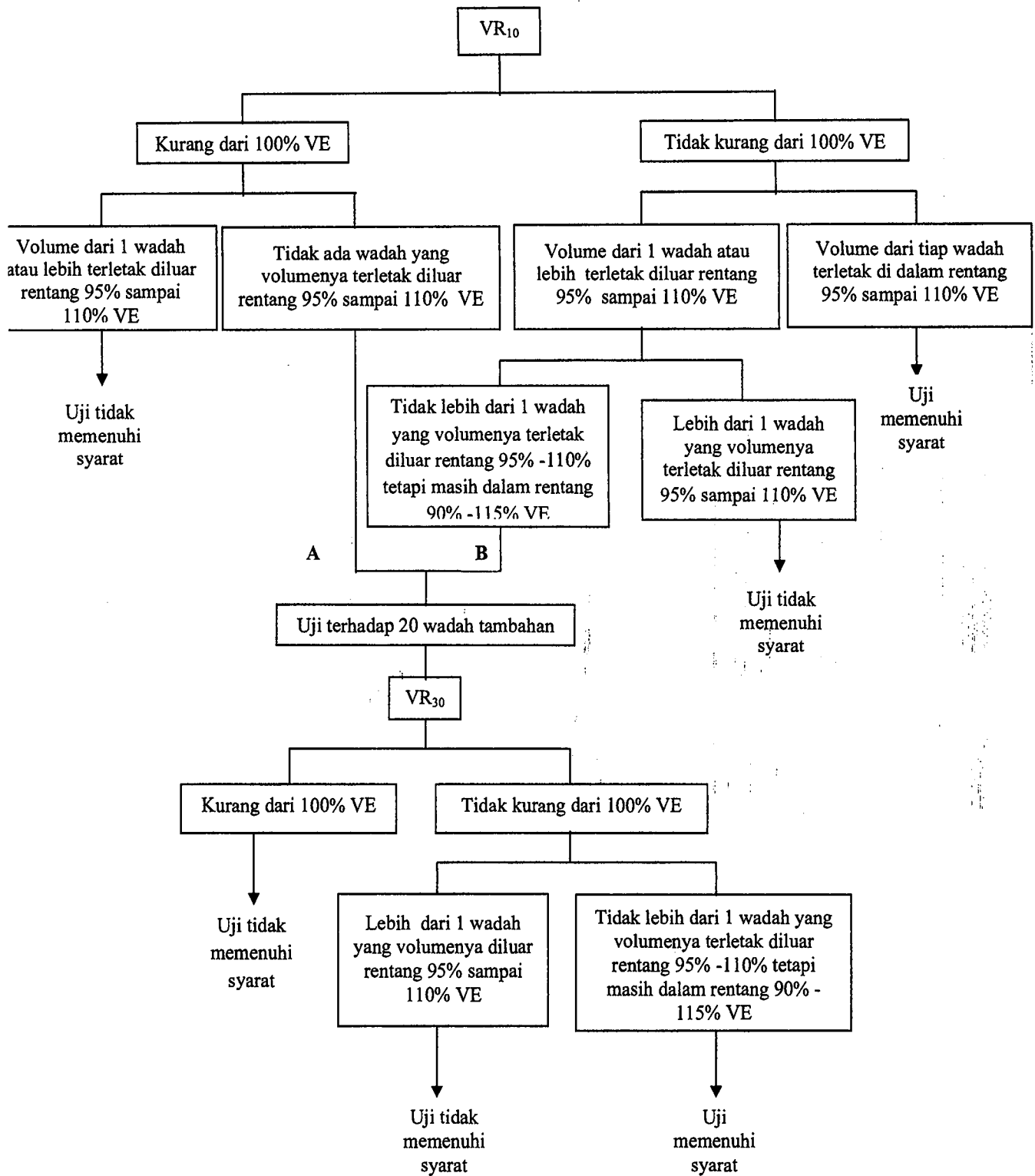
**Untuk sediaan wadah dosis ganda** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Gambar 1*. Volume rata-rata cairan yang diperoleh dari 10 wadah tidak kurang dari 100%, dan tidak ada satu wadahpun volumenya kurang dari 95% dari volume yang tertera pada etiket. Jika A adalah volume rata-rata kurang dari 100% dari volume yang tertera pada etiket, tetapi tidak ada satu wadahpun volumenya kurang dari 95% dari volume yang tertera pada etiket, atau B adalah volume rata-rata tidak kurang dari 100% dan tidak lebih dari satu wadah yang volumenya kurang dari 95%, tetapi tidak kurang dari 90% dari volume yang tertera pada etiket, lakukan uji terhadap

20 wadah tambahan. Volume rata-rata cairan yang diperoleh dari 30 wadah tidak kurang dari 100% dari volume yang tertera pada etiket, dan volume cairan yang diperoleh tidak lebih dari satu dari 30 wadah yang volumenya kurang dari 95%, tetapi tidak kurang dari 90% dari volume yang tertera pada etiket.

**Untuk sediaan wadah dosis tunggal** Memenuhi syarat seperti tertera pada *Gambar 2*. Volume rata-rata cairan yang diperoleh dari 10 wadah tidak kurang dari 100%, dan volume dari masing-masing wadah dari 10 wadah terletak dalam rentang 95% - 110% dari volume yang tertera pada etiket. Jika A adalah volume rata-rata kurang dari 100% dari volume yang tertera pada etiket, tetapi tidak ada satu wadah pun volumenya terletak diluar rentang 95% - 110% dari volume yang tertera pada etiket, atau B adalah volume rata-rata tidak kurang dari 100% dan tidak lebih dari satu wadah yang volumenya diluar rentang 95% - 110%, tetapi dalam rentang 90% sampai 115%, lakukan uji terhadap 20 wadah tambahan. Volume rata-rata cairan yang diperoleh dari 30 wadah tidak kurang dari 100% dari volume yang tertera pada etiket, dan tidak lebih dari satu dari 30 wadah volumenya diluar rentang 95% sampai 110%, tetapi masih dalam rentang 90% - 115% dari volume yang tertera pada etiket.



Gambar 1. Alur skema untuk wadah dosis ganda ( VR = Volume rata-rata, VE = Volume yang tertera pada etiket).



Gambar 2 Alur skema untuk wadah dosis tunggal (VR = Volume rata-rata; VE = Volume yang tertera pada etiket).

**WADAH <1271>**

**WADAH KACA**

Wadah kaca untuk penggunaan farmasi adalah wadah yang kontak langsung dengan sediaan farmasi. Kaca yang digunakan untuk wadah sediaan farmasi terbuat dari kaca borosilikat (netral) atau kaca soda kapur. Kaca borosilikat mengandung sejumlah oksida borat, aluminium oksida, alkali dan/atau oksida alkali dan oksida alkali tanah. Kaca borosilikat mempunyai ketahanan hidrolitik tinggi, karena sifat khas komposisi kimia kaca tersebut; kaca ini dikelompokkan sebagai kaca Tipe I. Kaca soda kapur adalah kaca silika yang mengandung oksida logam alkali. Kaca soda kapur mengandung ketahanan hidrolitik menengah karena sifat khas komposisi kimia kaca tersebut; kaca ini dikelompokkan sebagai kaca Tipe III. Permukaan bagian dalam wadah kaca dapat dilapisi, misalnya untuk meningkatkan ketahanan hidrolitik. Pelapisan wadah kaca Tipe III dapat meningkatkan ketahanan hidrolitik dari menengah ke tingkat lebih tinggi, sehingga terjadi perubahan pengelompokkan menjadi kaca Tipe II.

Permukaan luar wadah kaca dapat dilapisi untuk mengurangi gesekan atau untuk perlindungan terhadap abrasi atau pecah. Pelapisan permukaan luar tidak kontak dengan permukaan dalam wadah. Untuk melindungi isi dari cahaya, kaca dapat diberi warna atau diberi lapisan pada permukaan luar. Beberapa wadah memenuhi persyaratan *Transmisi cahaya* pada *Uji Kinerja Wadah <1281>*. Wadah jernih atau tidak berwarna atau tembus cahaya dapat dibuat tidak tembus cahaya dengan menggunakan lapisan buram (seperti tertera pada *Wadah tahan cahaya* dalam *Pengawet, Pengemas, Penyimpanan dan Penandaan* pada *Ketentuan Umum*) dikecualikan dari persyaratan *Transmisi Cahaya*.

Mutu wadah kaca ditentukan dengan pengukuran ketahanan terhadap bahan kimia. Sebagai tambahan, wadah Tipe I untuk sediaan parenteral mengandung air, dilakukan uji pelepasan arsen, dan terhadap wadah kaca berwarna dilakukan uji terhadap *Transmisi Cahaya*.

**Ketahanan Bahan Kimia**

Uji berikut ini dirancang untuk menetapkan daya tahan wadah kaca baru (yang belum pernah digunakan) terhadap air. Tingkat ketahanan ditentukan oleh jumlah alkali yang dilepaskan dari kaca karena pengaruh media pada kondisi yang telah ditentukan. Jumlah alkali yang dilepaskan sangat kecil pada kaca dengan ketahanan yang lebih tinggi, sehingga memerlukan perhatian terhadap semua rincian uji dan perlu digunakan alat dengan mutu dan ketelitian tinggi. Pengujian harus dilakukan di ruangan yang relatif bebas dari asap dan debu berlebih.

**Tipe kaca** Wadah kaca yang sesuai untuk kemasan sediaan farmasi diklasifikasikan seperti tertera pada

*Tabel 1* berdasarkan uji pada bab ini. Wadah Tipe I kaca borosilikat umumnya digunakan untuk sediaan parenteral. Wadah kaca Tipe I atau kaca Tipe II (seperti kaca soda kapur yang didealkalisasi dengan cara yang sesuai), biasanya digunakan untuk kemasan sediaan parenteral bersifat asam dan netral. Wadah kaca Tipe I atau wadah kaca Tipe II (kesesuaian ditunjukkan dengan data stabilitas) digunakan untuk sediaan parenteral bersifat alkali. Wadah Tipe III kaca soda kapur biasanya tidak digunakan untuk sediaan parenteral, kecuali jika data uji stabilitas yang sesuai menunjukkan bahwa kaca Tipe III tersebut memenuhi syarat untuk sediaan parenteral.

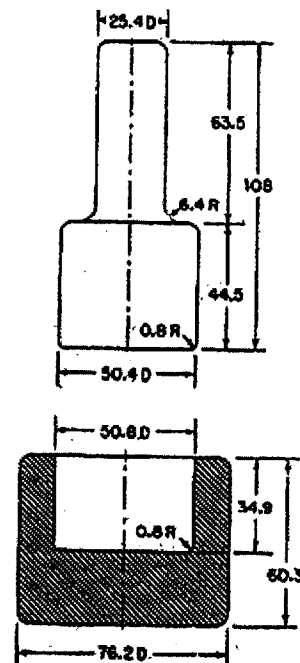
**Tabel 1 Tipe Kaca**

Tipe	Uraian umum	Tipe Uji
I	Kaca borosilikat, ketahanan tinggi	Serbuk kaca
II	Kaca soda kapur berlapis	Ketahanan terhadap air
III	Kaca soda kapur	Serbuk kaca

**Alat**

**OTOKLAF** Gunakan otoklaf yang mampu mempertahankan suhu  $121 \pm 2,0^\circ$ , dilengkapi dengan termometer, pengukur tekanan, pengatur ventilasi, dan rak yang cukup untuk menampung tidak kurang 12 wadah uji di atas permukaan air.

**LUMPANG DAN ALU** Gunakan lumpang dan alu terbuat dari baja diperkeras yang dibuat menurut spesifikasi pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Lumpang dan alu untuk menyerbukkan kaca

ALAT LAIN Pengayak terbuat dari baja tahan karat ukuran 20,3 cm yaitu nomor 20, 40 dan 50, dilengkapi dengan penampung dan tutup (seperti tertera pada *Pengayak dan derajat halus serbuk <1141>*); labu Erlenmeyer 250 ml terbuat dari kaca tahan lekang seperti yang ditetapkan; palu 900 g; magnet permanen; desikator dan peralatan volumetrik secukupnya.

### Pereaksi

**AIR KEMURNIAN TINGGI** Air yang digunakan pada uji ini mempunyai konduktivitas tidak lebih dari 0,15  $\mu\text{S}$  per cm, penetapan dilakukan dalam sel pada suhu 25°, sesaat sebelum digunakan. Pastikan juga bahwa air tidak dicemari oleh tembaga atau produk terbuat dari tembaga (seperti pipa, cemar atau wadah penampung tembaga). Air ini dapat dibuat dengan melewatkan air suling melalui tabung deionisasi berisi campuran resin kualitas nuklir, kemudian melalui membran ester selulosa yang mempunyai porositas tidak lebih dari 0,45  $\mu\text{m}$ . Tidak boleh menggunakan pipa tembaga. Bilas saluran sebelum air dibagikan ke dalam bejana. Jika persyaratan konduktivitas tidak dapat dipenuhi, ganti tabung deionisasi.

**AIR BEBAS KARBONDIOKSIDA** Gunakan *Air bebas karbon dioksida P*. **LARUTAN MERAH METIL (Uji Serbuk Kaca dan Ketahanan air pada 121°)** Larutkan 24 mg natrium merah metil P dalam *Air murni* hingga 100 ml. Jika perlu, netralkan larutan dengan natrium hidroksida 0,02 N atau asamkan dengan asam sulfat 0,02 N. Titrasi 100 ml *Air kemurnian tinggi* yang mengandung 5 tetes indikator, diperlukan tidak lebih dari 0,020 ml natrium hidroksida 0,020 N untuk mengubah warna indikator, dan ini terjadi pada pH 5,6.

**LARUTAN MERAH METIL (Uji Permukaan Kaca)** Larutkan 50 mg merah metil P dalam 1,86 ml natrium hidroksida 0,1 M dan 50 ml *etanol 96% P* dan encerkan hingga 100 ml *Air murni*. Untuk uji sensitifitas, tambahkan 100 ml *Air bebas karbon dioksida P* dan 0,05 ml asam klorida 0,02 M ke dalam 0,1 ml larutan merah metil: diperlukan tidak lebih dari 0,1 ml natrium hidroksida 0,1 M untuk mengubah warna menjadi kuning. Perubahan warna: pH 4,4 (merah) menjadi pH 6,0 (kuning).

### Uji Serbuk Kaca

Pilih secara acak enam atau lebih wadah, bilas dengan *Air murni*, keringkan dengan aliran udara kering dan bersih. Gerus wadah menjadi pecahan berukuran lebih kurang 25 mm, kemudian bagi lebih kurang 100 g pecahan kaca yang sudah digerus secara kasar menjadi 3 bagian yang lebih kurang sama, dan masukkan satu bagian ke dalam lumpang khusus. Dengan alu pada tempatnya, gerus kaca dengan cara menggosok 3 atau 4 kali dengan palu. Pasang pengayak, ayak serbuk kaca melalui pengayak nomor 20. Ulangi hal yang sama untuk setiap bagian dari dua bagian lain, kosongkan

lumpang setiap kali ke dalam pengayak nomor 20. Goyang pengayak sebentar, kemudian pindahkan kaca dari pengayak nomor 20 dan pengayak nomor 40, gerus kembali dan ayak lagi seperti sebelumnya. Ulangi kembali penggerusan dan pengayakan. Kosongkan wadah penampung, pasang susunan pengayak, dan goyang secara mekanik selama 5 menit atau dengan tangan untuk waktu yang setara. Pindahkan bagian yang tersisa pada pengayak nomor 50, yang bobotnya harus lebih dari 10 g, ke dalam wadah tertutup, dan simpan dalam desikator sampai saat pengujian.

Sebarkan contoh pada selembar kertas kaca dan lewatkan magnet melalui contoh tersebut untuk menghilangkan partikel besi yang terikat selama penggerusan. Masukkan contoh ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml terbuat dari kaca tahan bahan kimia, dan cuci 6 kali, tiap kali dengan 30 ml bagian *aseton P*, goyang setiap kali selama lebih kurang 30 detik dan dengan hati-hati, enaptuangkan aseton. Setelah dicuci, contoh harus bebas dari gumpalan serbuk kaca dan permukaan butiran praktis harus bebas dari pengaruh partikel halus yang melekat. Keringkan labu dan isi pada suhu 140° selama 20 menit, masukkan butiran ke dalam botol timbang dan dinginkan dalam desikator. Gunakan contoh uji dalam waktu 48 jam setelah pengeringan.

**Prosedur** Timbang saksama 10,00 g contoh uji, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang sebelumnya telah didigesti dengan *Air kemurnian tinggi* di dalam tangas air pada suhu 90° selama tidak kurang dari 24 jam atau pada suhu 121° selama 1 jam. Tambahkan 50,0 ml *Air kemurnian tinggi* ke dalam labu dan ke dalam labu lain untuk blangko. Tutup semua labu dengan gelas piala terbuat dari borosilikat yang sebelumnya sudah diperlakukan seperti pada labu, dengan ukuran sedemikian hingga dasar gelas piala menyentuh bagian tepi labu. Letakkan wadah dalam otoklaf, dan tutup hati-hati, biarkan lubang ventilasi terbuka. Panaskan hingga uap keluar dan lanjutkan pemanasan selama 10 menit. Tutup lubang ventilasi dan atur suhu pada 121°, diperlukan 19 - 23 menit untuk mencapai suhu yang diinginkan. Pertahankan suhu pada 121° $\pm$ 2,0° selama 30 menit. Kurangi panas hingga otoklaf mendingin dan mencapai tekanan atmosfer dalam 38 - 46 menit, jika perlu buka lubang ventilasi untuk mencegah terjadinya hampa udara. Dinginkan segera labu dalam air mengalir, enaptuangkan air dari labu ke dalam labu bersih yang sesuai, dan cuci sisa serbuk kaca empat kali, tiap kali dengan 15 ml *Air kemurnian tinggi*, kumpulkan hasil cucian. Tambahkan 5 tetes *Larutan merah metil*, dan titrasi segera dengan *asam sulfat 0,020 N LV*. Jika volume larutan titran diperkirakan kurang dari 10 ml, gunakan buret mikro. Catat volume *asam sulfat 0,020 N LV* yang digunakan untuk menetralkan ekstrak dari 10 g contoh uji, lakukan titrasi blangko. Volume tidak lebih dari yang tertera pada *Tabel 2* untuk tipe kaca yang diuji.

**Tabel 2 Batas uji untuk Uji serbuk kaca**

Tipe	Uraian umum <sup>a)</sup>	Tipe uji	Batas	
			Ukuran <sup>b)</sup> , ml	volume asam 0,020 N (ml)
I	Kaca borosilikat, ketahanan tinggi	Serbuk kaca	semua	1,0
III	Kaca soda-kapur	Serbuk kaca	semua	8,5

<sup>a)</sup>pemerian wadah untuk tipe kaca ini biasanya tersedia

<sup>b)</sup>ukuran menunjukkan kapasitas berlebih dari wadah

**Uji Permukaan Kaca**

**Penentuan volume pengisian** Volume pengisian adalah volume *Air murni* yang diisi ke dalam wadah. Untuk vial dan botol, volume pengisian adalah 90% dari kapasitas penuh. Untuk ampul volume ini sampai setinggi bahu.

**Vial dan botol** Pilih secara acak 6 wadah dari lot sampel, atau 3 jika kapasitas lebih dari 100 ml, dan hilangkan kotoran atau cemaran. Timbang wadah kosong dengan ketepatan 0,1 g. Letakkan wadah pada permukaan horizontal, isi dengan *Air murni* pada lebih kurang tepi lingkaran, hindari masuknya gelembung udara. Atur garis permukaan cairan penuh. Timbang wadah yang sudah diisi untuk memperoleh massa dari air, nyatakan pada 2 desimal untuk wadah yang mempunyai volume kurang atau sama dengan 30 ml, dan nyatakan dalam 1 desimal untuk wadah yang mempunyai volume lebih dari 30 ml. Hitung nilai rerata kapasitas penuh dalam ml, dan kalikan dengan 0,9. Volume ini, dinyatakan dalam satu desimal adalah volume pengisian untuk lot wadah.

**Ampul** Letakkan tidak kurang dari 6 ampul kering pada bidang rata, permukaan horisontal dan isi dengan *Air murni* melalui buret sampai air mencapai titik A, yaitu posisi badan ampul menurun pada bahu ampul (seperti tertera pada *Gambar 2*). Baca kapasitas, nyatakan dalam 2 desimal dan hitung nilai reratanya. Volume pengisian untuk lot ampul tertentu, dinyatakan dalam 1 desimal. Volume pengisian dapat juga ditetapkan dengan penimbangan.



**Gambar 2. Volume pengisian ampul (sampai titik A)**

Uji Lakukan penetapan pada wadah yang tidak digunakan. Volume cairan uji diperlukan untuk penetapan akhir ditunjukkan seperti yang tertera pada *Tabel 3*.

**Tabel 3 Volume Cairan Uji dan Volume Titrasi**

Volume pengisian (ml)	Volume cairan untuk satu titrasi (ml)	Jumlah titrasi
Hingga 3	25,0	1
Diatas 3 dan sampai 30	50,0	2
Diatas 30 dan sampai 100	100,0	2
Diatas 100	100,0	3

**Pencucian** Sebelum penetapan, bersihkan cemaran atau debu. Sesaat sebelum pengujian, bilas masing-masing wadah secara hati-hati sedikitnya dua kali dengan *Air murni*, dan diamkan. Segera sebelum uji, kosongkan wadah, bilas satu kali dengan *Air murni*, kemudian dengan *Air bebas karbondioksida* dan biarkan mengering. Lakukan prosedur pengeringan dari pembilasan pertama dalam waktu tidak kurang dari 20 menit dan tidak lebih dari 25 menit. Panaskan ampul tertutup dalam tangas air atau dalam oven udara panas pada suhu lebih kurang 50° selama lebih kurang 2 menit sebelum dibuka. Jangan dibilas sebelum uji.

**Pengisian dan Pemanasan** Wadah diisi dengan *Air bebas karbon dioksida* sampai volume pengisian. Wadah dalam bentuk tabung atau siring pra pengisian ditutup dengan cara yang sesuai dengan bahan yang tidak mengganggu pengujian. Masing-masing wadah, termasuk ampul ditutup dengan bahan inert seperti kaca netral atau aluminium foil yang sebelumnya dibilas dengan *Air murni*. Letakkan wadah ke dalam otoklaf.

Letakkan keranjang dalam otoklaf, tidak menyentuh air. Tutup otoklaf dan lakukan prosedur sebagai berikut:

1. panaskan hingga suhu 100° dan biarkan uap keluar dari lubang ventilasi selama 10 menit;
2. tutup lubang ventilasi dan tingkatkan suhu dari 100° - 121° dengan kecepatan 1° per menit;
3. pertahankan suhu pada 121°±1° selama 60±1 menit;
4. turunkan suhu dari 121° - 100° dengan kecepatan 0,5° per menit, buka lubang ventilasi untuk mencegah hampa udara;
5. jangan membuka otoklaf sebelum didinginkan hingga 95°;
6. keluarkan wadah dari otoklaf, tempatkan dalam tangas air pada 80° dan alirkan air kran dingin, jaga sehingga air tidak kontak dengan tutup aluminium foil yang longgar untuk menghindari kontaminasi larutan ekstraksi;
7. waktu pendinginan tidak lebih dari 30 menit.

Larutan ekstraksi dianalisis dengan titrasi menurut cara berikut ini.



**Metode** Lakukan titrasi dalam waktu 1 jam setelah wadah dikeluarkan dari otoklaf.

Gabungkan cairan yang diperoleh dari wadah dan campur. Masukkan volume seperti tertera pada *Tabel 3* ke dalam labu tentukur. Masukkan volume sama *Air bebas karbondioksida* ke dalam labu ke dua sebagai blangko. Tambahkan 0,05 ml *Larutan merah metil* ke dalam masing-masing labu untuk tiap 25 ml cairan. Titrasi blangko dengan asam klorida 0,01 M. Titrasi cairan uji dengan asam yang sama sampai warna larutan sama dengan warna blangko. Kurangi nilai yang diperoleh dari titrasi blangko dari nilai yang diperoleh untuk cairan uji, dan nyatakan dalam ml asam klorida 0,01 M per 100 ml. Nyatakan nilai titrasi kurang dari 1,0 ml dalam 2 desimal dan nilai titrasi lebih atau sama dengan 1,0 ml dalam 1 desimal.

**Batas Hasil** atau rerata hasil jika lebih dari satu titrasi dilakukan adalah tidak lebih besar dari nilai yang dinyatakan dalam *Tabel 4*.

**Tabel 4** Batas uji untuk uji permukaan kaca

Volume pengisian (ml)	Volume maksimum HCl 0,01 M per 100 ml cairan uji (ml)	
	Tipe I dan II	Tipe III
Sampai 1	2,0	20,0
Diatas 1 - 2	1,8	17,6
Di atas 2 - 5	1,3	13,2
Di atas 5 - 10	1,0	10,2
Di atas 10 - 20	0,80	8,1
Di atas 20 - 50	0,60	6,1
Di atas 50 - 100	0,50	4,8
Di atas 100 - 200	0,40	3,8
Di atas 200 - 500	0,30	2,9
Di atas 500	0,20	2,2

**Ketahanan Terhadap Air pada suhu 121°**

**Pilihan Uji Ketahanan Air pada suhu 121°** dapat diterapkan pada mutu kaca Tipe II.

Pilih secara acak 3 atau lebih wadah, bilas dua kali dengan *Air kemurnian tinggi*.

**Prosedur** Isi masing-masing wadah dengan *Air kemurnian tinggi* hingga 90% dari kapasitas penuh, dan lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Uji serbuk kaca*, mulai dari "Tutup semua labu", kecuali waktu pemanasan otoklaf menjadi 60 menit bukan 30 menit, dan akhiri dengan "untuk mencegah terjadinya hampa udara". Kosongkan isi dari 1 atau lebih wadah ke dalam gelas ukur 100 ml, dalam hal wadah yang lebih kecil, gabungkan isi dari beberapa wadah untuk memperoleh volume 100 ml. Masukkan gabungan contoh ke dalam labu tentukur 250-ml terbuat dari kaca tahan bahan kimia, tambah 5 tetes *Larutan merah metil*, dan titrasi selagi hangat, dengan *asam sulfat 0,020 N LV*. Selesaikan titrasi dalam waktu 60 menit sesudah otoklaf dibuka. Catat volume *asam sulfat 0,020 N LV* yang digunakan, lakukan titrasi blangko menggunakan 100 ml *Air kemurnian tinggi* pada suhu sama dan dengan jumlah

indikator yang sama. Volume tidak lebih dari yang tertera pada *Tabel 5*.

**Tabel 5** Batas uji ketahanan terhadap air pada suhu 121°

Tipe	Uraian umum <sup>a)</sup>	Tipe uji	Batas	
			Ukuran <sup>b)</sup> ml	Volume asam 0,020 N (ml)
II	Kaca soda-kapur yang dilapisi	Ketahanan terhadap air	100 atau kurang	0,7
			Lebih dari 100	0,2

<sup>a)</sup>pemerian wadah untuk tipe kaca ini biasanya tersedia

<sup>b)</sup>ukuran menunjukkan kapasitas penuh dari wadah

**Arsen**

**Arsen <321>** Tidak lebih dari 0,1 bpj; sebagai larutan uji gunakan 35 ml air dari satu wadah kaca Tipe I atau untuk wadah lebih kecil 35 ml isi gabungan beberapa wadah kaca Tipe I, lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur* dalam *Ketahanan terhadap air pada suhu 121°*.

**WADAH PLASTIK**

Bagian ini menetapkan standar untuk bahan dan komponen plastik yang digunakan dalam kemasan medis (farmasi, biologi, suplemen makanan, dan alat kesehatan). Definisi yang diterapkan pada bagian ini tertera pada *Pengawet, Pengemas, Penyimpanan, dan Penandaan* dalam *Ketentuan Umum*. Standar dan uji sifat fungsional dari wadah dan komponennya seperti tertera pada *Uji Kinerja Wadah <1281>*.

Artikel plastik diidentifikasi dan dikarakterisasi menggunakan spektroskopi inframerah dan "*differential scanning calorimetry*". Derajat uji berdasarkan pada apakah wadah kontak langsung dengan sediaan obat atau tidak, dan risiko berdasarkan pada rute pemberian obat.

Plastik yang dibuat dari campuran polimer homolog, mempunyai rentang bobot molekul tertentu. Plastik dapat mengandung bahan lain seperti sisa proses polimerisasi, plastisizer, penstabil, antioksidan, pewarna dan pelincir. Semua bahan tersebut harus memenuhi persyaratan untuk kontak dengan makanan. Faktor seperti komposisi plastik, proses dan prosedur pencucian, penanganan permukaan, media kontak, tinta, perekat, penyerapan dan permeabilitas pengawet, dan kondisi penyimpanan dapat juga mempengaruhi kesesuaian plastik untuk penggunaan khusus. Uji ekstraksi dirancang untuk mengkarakterisasi komponen yang terekstraksi dan identifikasi kemungkinan migrasi. Derajat atau tingkat pengujian untuk komponen yang terekstraksi tergantung pada maksud penggunaan dan derajat risiko dampak merugikan pada efikasi sediaan (farmasi, biologi, suplemen makanan, atau alat

kesehatan). Uji ekstraksi untuk resin spesifik terdapat dalam bagian polietilen, polipropilen, polipropilen tereftalat, dan polipropilen tereftalat G. Seluruh uji plastik lain tertera pada *Uji Fisikokimia* dalam *Metode Uji*. Lakukan uji *Kapasitas Dapar* hanya apabila wadah dimaksudkan untuk sediaan cair.

Komponen plastik yang digunakan untuk sediaan risiko tinggi, seperti untuk inhalasi, sediaan parenteral dan sediaan mata diuji menggunakan *Uji Biologi* dalam bagian *Metode Uji*.

Wadah plastik yang dimaksudkan untuk pengemasan produk sediaan parenteral harus memenuhi persyaratan seperti tertera pada *Uji Biologi* dan *Uji Fisikokimia* dalam *Metode Uji*. Standar juga berlaku untuk wadah polietilen yang digunakan untuk mengemas bentuk sediaan oral kering yang tidak ditujukan untuk dikonstruksi menjadi larutan.

## WADAH POLIETILEN

### Cakupan

Standar dan uji dalam bagian ini untuk mengkarakterisasi wadah dan komponennya dari wadah polietilen kerapatan rendah atau polietilen kerapatan tinggi dan wadah homopolimer atau resin kopolimer. Semua komponen polietilen diuji secara spektroskopi inframerah dan "differential scanning calorimetry". Jika uji stabilitas telah dibuat untuk menetapkan tanggal kedaluwarsa dari suatu bentuk sediaan dalam wadah polietilen yang sesuai, maka wadah polietilen lain yang memenuhi persyaratan dapat digunakan untuk mengemas sediaan tersebut, jika dilakukan uji stabilitas yang sesuai untuk wadah alternatif, yang bertujuan untuk menjamin bahwa identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian bentuk sediaan dipertahankan selama periode penggunaan.

### Latar belakang

Polietilen kerapatan tinggi dan kerapatan rendah adalah polimer rantai panjang yang disintesa dibawah kondisi panas dan tekanan terkendali, dengan bantuan katalis dengan tidak kurang dari 85,0% etilen dan tidak kurang dari 95,0% total olefin. Bahan olefin lain yang sering digunakan adalah butana, heksana, dan propilen. Polietilen kerapatan tinggi dan kerapatan rendah keduanya mempunyai spektrum serapan inframerah yang khusus untuk polietilen dan masing-masing mempunyai karakteristik sifat panas tertentu. Polietilen kerapatan tinggi mempunyai bobot jenis antara 0,941 dan 0,965 g per  $\text{cm}^3$ . Polietilen kerapatan rendah mempunyai bobot jenis antara 0,850 dan 0,940 g per  $\text{cm}^3$ . Sifat lain yang mempengaruhi mutu polietilen termasuk elastisitas, indeks leleh, ketahanan retak terhadap tekanan lingkungan dan derajat hablur sesudah pencetakan.

## Polietilen Kerapatan Tinggi

**Spektroskopi Inframerah** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Metode Uji* dalam *Pantulan ganda internal*. Spektrum serapan contoh menunjukkan pita serapan utama hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Polietilen Kerapatan Tinggi BPFI*.

**"Differential Scanning Calorimetry"** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Analisis Termal* dalam *Metode Uji*. Termogram contoh sesuai dengan termogram *Polietilen Kerapatan Tinggi BPFI*, yang ditetapkan dengan cara yang sama dan suhu endoterm (pelelehan) dalam termogram contoh berbeda tidak lebih dari 6,0° dari pembandingan BPFI.

**Logam berat dan residu tidak menguap** Siapkan ekstrak contoh uji seperti tertera pada *Uji Fisikokimia* dalam *Metode Uji*, kecuali *Larutan uji* untuk masing-masing 20,0 ml *Media Ekstraksi* menjadi 60  $\text{cm}^2$  tanpa memperhatikan ketebalan.

**LOGAM BERAT** Wadah memenuhi persyaratan seperti tertera pada *Logam Berat* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*.

**RESIDU TIDAK MENGUAP** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Residu tidak menguap* dalam *Uji Fisikokimia*, kecuali bahwa *Blangko* menggunakan pelarut yang sama pada kondisi uji berikut: perbedaan antara hasil yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Blangko* tidak lebih dari 12,0 mg jika digunakan air pada suhu 70° sebagai *Media ekstraksi*; tidak lebih dari 75,0 mg jika digunakan etanol pada suhu 70° sebagai *Media ekstraksi*; dan tidak lebih dari 100,0 mg jika digunakan heksan pada suhu 50° sebagai *Media ekstraksi*.

**Polietilen yang digunakan sebagai wadah cairan oral** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kapasitas Dapar* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*.

## Polietilen Kerapatan Rendah

**Spektroskopi Inframerah** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Pantulan ganda internal* dalam *Metode Uji*. Spektrum serapan contoh menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Polietilen Kerapatan Rendah BPFI*.

**"Differential Scanning Calorimetry"** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Analisis Termal* dalam *Metode Uji*. Termogram contoh sesuai dengan termogram *Polietilen Kerapatan Rendah BPFI*, yang ditetapkan dengan cara yang sama dan suhu endoterm (pelelehan) dalam termogram contoh berbeda tidak lebih dari 8,0° dari pembandingan BPFI.

**Logam berat dan residu tidak menguap** Buat ekstrak contoh uji seperti tertera pada *Uji Fisikokimia* dalam *Metode Uji*, kecuali *Larutan uji* untuk masing-masing 20,0 ml *Media Ekstraksi* menjadi 60  $\text{cm}^2$  tanpa memperhatikan ketebalan.

LOGAM BERAT Wadah memenuhi persyaratan seperti tertera pada *Logam Berat* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*.

RESIDU TIDAK MENGUAP Lakukan penetapan seperti tertera pada *Residu tidak menguap* dalam *Uji Fisikokimia*, kecuali bahwa *Blangko* menggunakan pelarut yang sama pada kondisi uji berikut: perbedaan antara hasil yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Blangko* tidak lebih dari 12,0 mg jika digunakan air pada suhu 70° sebagai *Media ekstraksi*; tidak lebih dari 75,0 mg jika digunakan etanol pada suhu 70° sebagai *Media ekstraksi*; dan tidak lebih dari 350,0 mg jika digunakan heksan pada suhu 50° sebagai *Media ekstraksi*.

Polietilen yang digunakan sebagai wadah cairan oral Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kapasitas Dapar* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*.

## WADAH POLIPROPILEN

### Cakupan

Standar dan uji dalam bagian ini untuk karakterisasi wadah polipropilen yang dibuat dari homopolimer atau kopolimer yang dapat dipertukarkan untuk kemasan bentuk sediaan padat kering dan sediaan cair oral yang sesuai. Jika uji stabilitas telah dilakukan untuk menetapkan tanggal kedaluwarsa dari suatu bentuk sediaan dalam wadah polipropilen yang sesuai, maka wadah polipropilen lain yang memenuhi persyaratan dapat digunakan untuk mengemas sediaan tersebut, jika dilakukan uji stabilitas yang sesuai untuk wadah alternatif, yang bertujuan untuk menjamin bahwa identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian bentuk sediaan dipertahankan selama periode penggunaan.

### Latar belakang

Polimer propilen adalah polimer rantai panjang yang disintesa dari propilen atau propilen dan olefin lain pada kondisi pemanasan dan tekanan rendah terkendali, dengan bantuan katalisator. Contoh olefin lain yang umum digunakan adalah etilen dan butena. Polimer propilen, komponen yang digunakan untuk membuat polimer propilen dan komponen yang digunakan untuk membuat wadah harus memenuhi syarat yang berlaku.

Faktor seperti komposisi plastik, prosedur proses dan pencucian, media kontak, tinta, perekat, penyerapan dan permeabilitas pengawet, dan kondisi penyimpanan dapat juga mempengaruhi kesesuaian plastik untuk penggunaan khusus. Kesesuaian polipropilen tertentu harus ditetapkan dengan pengujian yang sesuai.

Polipropilen mempunyai spektrum serapan IR yang berbeda dan karakteristik sifat termal. Polipropilen mempunyai bobot jenis antara 0,880 dan 0,913 g per cm<sup>3</sup>. Sifat permeasi dari wadah polipropilen yang terbentuk dapat terpengaruh jika ada sisa polimer dasar yang tidak terikat, tergantung dari jumlah bahan dasar dalam produk akhir. Sifat lain yang dapat mempengaruhi kesesuaian polipropilen yang digunakan sebagai

kemasan sediaan obat adalah permeabilitas terhadap oksigen dan kelembapan, elastisitas, indeks leleh, ketahanan retak terhadap tekanan lingkungan dan derajat hablur sesudah pencetakan. Persyaratan dalam bab ini harus dipenuhi untuk jenis wadah yang telah dijelaskan tersebut jika digunakan untuk mengemas sediaan padat kering dan sediaan cair oral.

Spektroskopi Inframerah Lakukan penetapan seperti tertera pada *Pantulan ganda internal* dalam *Metode Uji*. Spektrum serapan contoh menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Polipropilen Homopolimer BPF1* atau kopolimer polipropilen baku.

"*Differential Scanning Calorimetry*" Lakukan penetapan seperti tertera pada *Analisis Termal* dalam *Metode Uji*. Suhu endoterm (pelelehan) dalam termogram contoh berbeda tidak lebih dari 6,0° dari *Polipropilen Homopolimer BPF1*. Suhu endoterm (pelelehan) dalam termogram contoh kopolimer polipropilen berbeda tidak lebih dari 12,0° dari kopolimer polipropilen baku.

Logam berat dan residu tidak menguap Buat ekstrak contoh seperti tertera pada *Larutan uji* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*, kecuali untuk masing-masing 20,0 ml *Media Ekstraksi* menjadi 60 cm<sup>2</sup> tanpa memperhatikan ketebalan.

LOGAM BERAT Wadah memenuhi persyaratan seperti tertera pada *Logam Berat* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*.

RESIDU TIDAK MENGUAP Lakukan penetapan seperti tertera pada *Residu tidak menguap* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*, kecuali bahwa *Blangko* menggunakan pelarut yang sama pada kondisi uji berikut: perbedaan antara hasil yang diperoleh dari *Larutan uji* dan *Blangko* tidak lebih dari 10,0 mg jika digunakan air pada suhu 70° sebagai *Media ekstraksi*; tidak lebih dari 60,0 mg jika digunakan etanol pada suhu 70° sebagai *Media ekstraksi*; dan tidak lebih dari 225,0 mg jika digunakan heksan pada suhu 50° sebagai *Media ekstraksi*. Wadah memenuhi persyaratan *Residu tidak menguap* untuk semua media ekstraksi tersebut. [Catatan Heksan dan etanol mudah terbakar. Ketika menguapkan pelarut ini, gunakan aliran udara dari penangas air; ketika mengeringkan residu, gunakan oven tahan ledak.]

Polipropilen yang digunakan sebagai wadah cairan oral Lakukan penetapan seperti tertera pada *Kapasitas Dapar* dalam *Uji Fisikokimia* pada *Metode Uji*.

## WADAH BOTOL POLIETILEN TEREFTALAT DAN POLIETILEN TEREFTALAT G

### Cakupan

Standar dan pengujian dalam bab ini untuk karakterisasi botol-botol polietilen tereftalat (PET) dan polietilen tereftalat G (PETG) yang dapat dipertukarkan untuk kemasan bentuk sediaan oral cair yang sesuai. Uji stabilitas sudah dilakukan dalam menetapkan waktu kedaluwarsa dari bentuk sediaan oral cair tertentu dalam botol yang memenuhi syarat baik untuk botol PET maupun PETG, maka botol PET atau PETG lain yang memenuhi persyaratan dapat digunakan untuk mengemas sediaan tersebut, jika dilakukan uji stabilitas yang sesuai untuk botol alternatif, yang bertujuan untuk menjamin bahwa identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian bentuk sediaan dipertahankan selama periode penggunaan. Kesesuaian dari botol PET dan PETG tertentu untuk penggunaan dalam peracikan sediaan farmasi cair oral tertentu harus ditetapkan dengan uji yang sesuai.

### Latar Belakang

Resin PET adalah polimer hablur rantai panjang yang dibuat dengan kondensasi etilena glikol dengan dimetil tereftalat atau asam tereftalik. Resin kopolimer PET dibuat dengan cara yang sama, kecuali mempunyai sejumlah kecil dari asam isoftalat (tidak lebih dari 3 persen mol) atau 1,4-sikloheksanadimetanol (tidak lebih dari 5 persen mol). Polimerisasi dilakukan pada kondisi pemanasan dan tekanan rendah yang terkendali dengan bantuan katalisator dan penstabil.

Resin kopolimer PET mempunyai sifat fisika dan spektra mirip PET dan untuk tujuan praktis diperlakukan sebagai PET. Uji dan spesifikasi dalam bab ini untuk karakterisasi resin PET dan botol juga berlaku untuk resin kopolimer PET dan botol yang terbuat dari kopolimer tersebut.

Resin PET dan kopolimer PET umumnya menunjukkan molekul yang besar. Sebagai hasilnya, menunjukkan karakteristik sifat komposisi yang tergantung pada suhu, termasuk suhu transisi kaca lebih kurang  $76^{\circ}$  dan suhu leleh lebih kurang  $250^{\circ}$ . Resin ini mempunyai spektrum serapan IR yang berbeda dari bahan plastik lain (seperti resin polikarbonat, polistiren, polietilen, dan PETG). Resin kopolimer PET dan PETG mempunyai bobot jenis antara 1,3 dan 1,4 g per  $\text{cm}^3$  dan kekentalan intrinsik minimum 70 ml per g, yang sesuai dengan rerata bobot molekul lebih kurang 23.000 Da.

Resin PETG adalah polimer dengan bobot molekul tinggi yang dibuat dengan kondensasi etilena glikol dengan dimetil tereftalat atau asam tereftalat dan 1,4-sikloheksanadimetanol 15 hingga 34 persen mol. Resin PETG bening, polimer amorf, mempunyai suhu transisi kaca lebih kurang  $81^{\circ}$  dan tidak ada titik leleh hablur, jika ditetapkan dengan "differential scanning calorimetry". Resin PETG mempunyai spektrum serapan inframerah yang berbeda dari bahan plastik lain,

termasuk PET. Resin PETG mempunyai bobot jenis lebih kurang 1,27 g per  $\text{cm}^3$  dan kekentalan intrinsik minimum 65 ml per g, yang sesuai dengan rerata bobot molekul lebih kurang 16.000 Da.

Resin PET dan PETG, dan bahan lain yang digunakan dalam pembuatan botol sesuai dengan persyaratan yang berlaku, terkait dengan penggunaan botol yang kontak dengan bahan makanan dan minuman beralkohol. Resin PET dan PETG tidak boleh mengandung plastisizer, bahan pembantu proses atau antioksidan. Pewarna, jika digunakan dalam pembuatan botol PET dan PETG, tidak boleh bermigrasi pada cairan didalamnya.

**Spektroskopi Inframerah** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Pantulan ganda internal* dalam *Metode Uji*. Spektrum serapan contoh menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada spektrum *Polietilen Tereftalat BPF1* atau *Polietilen Tereftalat G BPF1*.

**"Differential Scanning Calorimetry"** Lakukan penetapan seperti tertera pada *Analisis Termal* dalam *Metode Uji*. Untuk Polietilen tereftalat, termogram contoh sesuai dengan termogram *Polietilen Tereftalat BPF1*, dengan penetapan yang sama titik lebur ( $T_m$ ) dari contoh, tidak berbeda lebih dari  $9,0^{\circ}$ , dan suhu transisi kaca ( $T_g$ ) contoh tidak berbeda lebih dari  $4,0^{\circ}$ . Untuk Polietilen tereftalat G, termogram contoh sesuai dengan termogram *Polietilen tereftalat G BPF1*, dengan penetapan yang sama suhu transisi kaca ( $T_g$ ) contoh tidak berbeda lebih dari  $6,0^{\circ}$ .

**Ekstraksi Pewarna** Pilih tiga botol uji. Potong secara relatif rata bagian dari sisi dinding dari satu botol, dan bentuk jika perlu agar sesuai dengan pemegang sampel dari spektrofotometer. Lakukan serapan spektrum sinar tampak sisi dinding dari 350 hingga 700 nm. Tetapkan, sampai mendekati 2 nm, panjang gelombang serapan maksimum. Isi dua botol yang lain, dengan etanol 50% untuk botol PET dan etanol 25% untuk botol PETG. Tutup botol dengan segel, seperti aluminium foil, dan gunakan penutup. Isi botol kaca yang mempunyai kapasitas yang sama seperti botol uji dengan pelarut yang sama, tutup botol dengan segel seperti aluminium foil, dan gunakan penutup. Inkubasi botol uji dan botol kaca pada suhu  $49^{\circ}$  selama 10 hari. Keluarkan botol dan biarkan dingin hingga suhu ruang. Tetapkan serapan larutan uji dalam sel 5-cm pada panjang gelombang serapan maksimum seperti tertera pada *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>*, gunakan pelarut yang sesuai dari botol kaca sebagai blangko. Nilai serapan yang diperoleh kurang dari 0,01 untuk kedua larutan.

### Logam berat, jumlah Tereftaloil, dan Etilen glikol

#### MEDIA EKSTRAKSI

*Air murni* Seperti tertera pada monografi.

*Etanol 50 %* Encerkan 125 ml *etanol P* dengan air hingga 238 ml dan campur.

*Etanol 25%* Encerkan 125 ml *Etanol 50 %* dengan air hingga 250 ml, dan campur *n-Heptan*.

**PROSEDUR** [Catatan Gunakan Media ekstraksi *etanol 50 %* untuk botol PET dan *etanol 25 %* untuk botol PETG]. Isi sejumlah botol uji hingga 90% kapasitas penuh untuk memperoleh tidak kurang dari 30 ml untuk setiap Media ekstraksi. Isi sejumlah yang sama botol kaca dengan Air murni, *Etanol 50 %* atau *Etanol 25%*, atau *n-heptan* untuk digunakan sebagai Media ekstraksi blangko. Tutup botol dengan segel, seperti aluminium foil, gunakan penutup. Inkubasi botol yang diuji dan botol kaca pada suhu 49° selama 10 hari. Keluarkan botol uji dengan Media ekstraksi dan botol kaca dengan Media ekstraksi blangko dan simpan pada suhu ruang. Jangan pindahkan Media ekstraksi contoh ke dalam labu lain.

**LOGAM BERAT** Pipet 20 ml ekstrak Air murni botol uji, saring jika perlu, ke dalam satu dari dua tabung pembanding warna 50-ml yang sesuai, dan sisa ekstrak Air murni botol uji untuk digunakan dalam uji Etilen glikol. Atur pH ekstrak hingga antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N atau amonium hidroksida 6 N, menggunakan kertas pH. Encerkan dengan air hingga 35 ml dan campur.

Ke dalam tabung pembanding warna kedua, pipet 2 ml Larutan timbal baku yang dibuat segar (pada penggunaan sehari) seperti tertera pada Logam berat <371> dan tambahkan 20 ml Air murni. Atur pH hingga antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N atau amonium hidroksida 6 N, menggunakan kertas pH. Encerkan dengan air hingga 35 ml dan campur.

Pada masing-masing tabung tambahkan 1,2 ml tioasetamida LP dan 2 ml Dapar asetat pH 3,5 seperti tertera pada Logam berat <371>, encerkan dengan air hingga 50 ml, dan campur: warna yang dihasilkan dalam waktu 10 menit, pada tabung yang berisi ekstrak Air murni botol uji tidak melebihi dari tabung yang berisi Larutan timbal baku, kedua tabung dilihat secara vertikal pada permukaan putih (1 bpj dalam ekstrak).

**JUMLAH TEREFTALOIL** Lakukan penetapan serapan ekstrak *Etanol 50 %* atau *Etanol 25 %* dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 244 nm seperti tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>, gunakan Media ekstraksi sebagai blangko: serapan ekstrak tidak lebih dari 0,150, setara dengan tidak lebih dari 1 bpj jumlah tereftaloil.

Lakukan penetapan serapan ekstrak *n-heptan* dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 240 nm seperti tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>, gunakan Media ekstraksi *n-heptan* sebagai blangko: serapan ekstrak tidak lebih dari 0,150, setara dengan tidak lebih dari 1 bpj jumlah tereftaloil.

#### ETILEN GLIKOL

**Larutan asam periodat** Larutkan 125 mg asam periodat P dalam 10 ml air.

**Asam sulfat encer** Ke dalam 50 ml air tambahkan 50 ml asam sulfat P secara perlahan dan dengan pengadukan tetap dan biarkan dingin sampai suhu ruang.

**Larutan natrium bisulfit** Larutkan 0,1 g natrium bisulfit P dalam 10 ml air. Gunakan larutan dalam waktu 7 hari.

**Larutan dinatrium kromotropat** Larutkan 100 mg dinatrium kromotropat P dalam 100 ml asam sulfat P. Lindungi larutan dari cahaya dan gunakan dalam waktu 7 hari.

**Larutan baku** Timbang saksama sejumlah etilen glikol, larutkan dalam air dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap, hingga kadar lebih kurang 1 µg per ml.

**Larutan uji** Gunakan ekstrak Air murni.

**Prosedur** Pipet 1 ml Larutan baku ke dalam labu tentukur 10-ml. Pipet 1 ml Larutan uji ke dalam labu tentukur ke dua. Pipet 1 ml Media ekstraksi Air murni ke dalam labu tentukur 10-ml ke tiga. Ke dalam masing-masing labu tentukur, tambahkan 100 µl Larutan asam periodat, goyang hingga bercampur dan diamkan selama 60 menit. Tambahkan 1,0 ml Larutan natrium bisulfit ke dalam masing-masing labu tentukur, dan campur. Tambahkan 100 µl Larutan dinatrium kromotropat ke dalam masing-masing labu tentukur dan campur. [Catatan Semua larutan harus dianalisis dalam waktu 1 jam setelah penambahan Larutan dinatrium kromotropat.] Tambahkan secara hati-hati 6 ml Asam sulfat encer ke dalam masing-masing labu tentukur, campur dan biarkan larutan dingin sampai suhu ruang. [Perhatian Pengenceran asam sulfat menghasilkan panas dan dapat menyebabkan larutan mendidih. Perhatikan penambahan larutan harus secara hati-hati. Timbulnya gas sulfur dioksida harus diperhatikan. Disarankan gunakan lemari asam.] Encerkan masing-masing larutan dengan Asam sulfat encer sampai tanda. Tetapkan secara berurutan serapan Larutan baku dan Larutan uji dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 575 nm seperti tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>, gunakan Media ekstraksi Air murni sebagai blangko: serapan Larutan uji tidak lebih besar dari Larutan baku, setara dengan tidak lebih dari 1 bpj etilen glikol.

## METODE UJI

### Pantulan Ganda Internal

**Alat** Gunakan spektrofotometer inframerah yang mampu mengkoreksi spektrum blangko dan dilengkapi dengan alat tambahan pantulan ganda internal dan lempeng pantulan internal KRS-5. Hablur KRS-5 dengan tebal 2 mm mempunyai sudut 45° yang menghasilkan jumlah pantulan yang cukup.

**Penyiapan contoh** Potong dua lempeng bagian datar yang mewakili ketebalan rata-rata dinding wadah, dan potong bila perlu untuk memperoleh bagian yang sesuai untuk dipasang dalam alat tambahan pantulan ganda internal. Lakukan hati-hati untuk menghindari goresan permukaan, usap dengan kertas kering atau jika perlu, bersihkan dengan dengan kain lembut yang dibasahi metanol P, dan biarkan kering. Pasang dengan erat

contoh pada kedua sisi lempeng pantulan internal KRS-5, pastikan bahwa kontak permukaan cukup. Sebelum memasang contoh pada lempeng, dapat dikempa menjadi lapis film tipis dan merata, dengan pemaparan pada suhu lebih kurang 177° dengan tekanan tinggi (15.000 psi atau lebih).

**Prosedur** Letakkan contoh yang telah dipasang dalam alat tambahan pantulan ganda internal, dan letakkan rakitan dalam berkas contoh spektrofotometer inframerah. Atur kedudukan di dalam perlengkapan untuk membiarkan transmisi cahaya maksimum dari berkas pembanding yang tidak diatenuasi (Untuk instrumen berkas ganda, setelah selesai melakukan penyesuaian dalam perlengkapan, lemahkan berkas pembanding untuk memberikan defleksi pantulan skala penuh selama penatahan contoh). Tetapkan spektrum inframerah dari 3500 - 600  $\text{cm}^{-1}$  untuk polietilen dan polipropilen dan dari 4000 - 400  $\text{cm}^{-1}$  untuk PET dan PETG.

#### Analisis Termal

**Prosedur** Timbang lebih kurang 12 mg potongan contoh dan letakkan dalam piring contoh uji. [Catatan Dekatkan kontak antara piring dan termokopel, untuk hasil yang reproduibel.] Tetapkan termogram di bawah aliran nitrogen, gunakan kondisi pemanasan dan pendinginan seperti yang ditetapkan untuk tipe resin dan gunakan alat yang mampu melakukan penetapan seperti tertera pada Analisis Termal <741>.

**Untuk polietilen** Lakukan penetapan termogram di bawah aliran nitrogen pada suhu antara 40° dan 200° dengan kecepatan pemanasan antara 2° dan 10° per menit diikuti pendinginan dengan kecepatan antara 2° dan 10° per menit hingga suhu 40°.

**Untuk polipropilen** Lakukan penetapan termogram di bawah aliran nitrogen pada rentang suhu antara suhu ruang hingga 30° di atas titik leleh. Pertahankan suhu selama 10 menit, kemudian dinginkan hingga 50° di bawah suhu penghabluran puncak pada kecepatan 10° - 20° per menit.

**Untuk polietilen tereftalat** Lakukan pemanasan contoh dari suhu ruang hingga 280° pada kecepatan pemanasan lebih kurang 20° per menit. Pertahankan suhu contoh pada 280° selama 1 menit. Secara cepat dinginkan contoh sampai suhu ruang, dan panaskan kembali hingga suhu 280° dengan kecepatan pemanasan lebih kurang 5° per menit.

**Untuk polietilen tereftalat G** Lakukan pemanasan contoh dari suhu ruang hingga 120° pada kecepatan pemanasan lebih kurang 20° per menit. Pertahankan suhu contoh pada 120° selama 1 menit, dinginkan dengan cepat hingga suhu ruang dan panaskan kembali hingga 120° pada kecepatan pemanasan lebih kurang 10° per menit.

#### Uji Biologi

Uji biologi in vitro dilakukan menurut prosedur seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi, In Vitro* <241>. Komponen-komponen yang memenuhi persyaratan uji in vitro tidak perlu menjalani uji lanjutan. Tidak dilakukan pengujian terhadap jenis plastik. Bahan-bahan yang tidak memenuhi persyaratan uji in vitro tidak sesuai untuk wadah sediaan obat.

Jika digunakan plastik dan polimer lain yang harus memenuhi syarat *Uji Reaktivitas Biologi, In Vitro* <241>, lakukan pengujian in vivo khusus pada *Uji Klasifikasi Plastik dalam Uji Reaktivitas Biologi, In Vivo* <251>.

#### Uji Fisikokimia

Uji berikut, dirancang untuk menetapkan sifat fisika dan kimia plastik dan ekstraknya, berdasarkan pada ekstraksi bahan plastik, perlu ditetapkan jumlah plastik yang akan digunakan. Juga luas permukaan plastik harus cukup untuk diekstraksi pada suhu yang ditentukan.

##### Parameter uji

**Media ekstraksi** Kecuali dinyatakan lain gunakan *Air murni* (seperti tertera pada monografi) sebagai *Media Ekstraksi*, pertahankan pada suhu 70° selama ekstraksi *Larutan uji*.

**Blangko** Gunakan *Air murni*.

**Alat** Gunakan tangas air dan *Wadah Ekstraksi* seperti tertera pada *Uji Reaktivitas secara Biologi, In Vivo* <251>. [Catatan *Wadah dan peralatan tidak perlu steril.*]

**Larutan uji** Dari contoh plastik homogen jumlah luas permukaan setara dengan 120  $\text{cm}^2$  (kedua sisi permukaan digabungkan), gunakan untuk tiap 20,0 ml *Media Ekstraksi*, dan dipotong menjadi bentuk pita dengan lebar lebih kurang 3 mm dan panjang lebih kurang 5 cm. Masukkan ke dalam gelas ukur 250 ml terbuat dari kaca Tipe I, bersumbat kaca dan tambahkan lebih kurang 150 ml *Air murni*. Kocok lebih kurang 30 detik, buang cairan dan ulangi pencucian.

**Ekstrak Larutan Uji** Masukkan *Larutan uji* ke dalam labu yang sesuai, dan tambahkan sejumlah *Media ekstraksi* yang dibutuhkan. Ekstraksi dengan pemanasan dalam tangas air pada suhu yang ditetapkan untuk *Media ekstraksi* selama 24 jam. Dinginkan, tetapi tidak di bawah 20°. Pipet 20 ml ekstrak ke dalam wadah yang sesuai. [Catatan *Gunakan bagian ini dalam uji untuk Kapasitas Dapar.*] Enaptuangkan dengan segera sisa ekstrak ke dalam labu yang sesuai dan segel.

**Residu tidak menguap** Pipet 50 ml *Ekstrak Larutan Uji* ke dalam krus yang sudah ditara (lebih baik krus leburan silika yang sudah dicuci dengan asam), dan uapkan bahan mudah menguap di atas tangas uap. Dengan cara yang sama uapkan 50,0 ml *Blangko* dalam krus ke dua. [Catatan *Jika diperkirakan residu berminyak, amati krus secara berulang selama periode penguapan dan pengeringan, dan kurangi pemanasan jika minyak cenderung merambat sepanjang dinding*

krus.] Keringkan pada suhu 105° selama 1 jam: perbedaan antara jumlah yang diperoleh dari *Ekstrak Larutan Uji* dan *Blangko* tidak lebih dari 15 mg.

**Sisa pemijaran <301>** [Catatan Uji ini tidak diperlukan jika Residu Tidak Menguap tidak lebih dari 5 mg]. Lakukan penetapan terhadap residu yang diperoleh dari *Ekstrak Larutan Uji* dan *Blangko* pada *Residu Tidak Menguap*. Jika perlu, tambahkan asam sulfat P volume sama ke dalam masing-masing krus: perbedaan antara jumlah residu pada pemijaran yang diperoleh dari *Ekstrak Larutan Uji* dan *Blangko* tidak lebih dari 5 mg.

**Logam Berat** Tidak lebih dari 1 bpj dalam ekstrak. Pipet 20 ml *Ekstrak Larutan Uji*, saring jika perlu, ke dalam satu dari dua tabung pembanding warna 50 ml yang sesuai. Atur pH hingga antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat 1 N atau amonium hidroksida 6 N, gunakan kertas pH, encerkan dengan air hingga lebih kurang 35 ml, dan campur.

Pipet 2 ml *Larutan timbal baku* seperti tertera pada *Logam berat <371>* ke dalam tabung pembanding warna kedua, dan tambahkan 20 ml *Blangko*. Atur pH hingga antara 3,0 dan 4,0 dengan penambahan asam asetat glasial 1 N atau amonium hidroksida 6 N, gunakan kertas pH, encerkan dengan air hingga lebih kurang 35 ml, dan campur. Ke dalam masing-masing tabung tambahkan 1,2 ml *tiosetamida LP* dan 2 ml *dapar asetat pH 3,5* seperti tertera pada *Logam berat <371>*, encerkan dengan air hingga 50 ml, dan campur: warna coklat yang dihasilkan dalam waktu 10 menit dalam tabung yang berisi *Ekstrak Larutan Uji* tidak melebihi dari tabung yang berisi *Larutan timbal baku* diamati vertikal pada permukaan putih.

**Kapasitas Dapar** Kumpulkan 20 ml *Ekstrak Larutan Uji*, titrasi dengan asam klorida 0,010 N LV atau natrium hidroksida 0,010 N LV tergantung keperluan. Titik akhir diamati secara potensiometrik hingga pH 7,0. Lakukan penetapan 20,0 ml *Blangko* dengan cara yang sama: jika diperlukan pentiter yang sama untuk uji dan *blangko*, maka perbedaan antara dua volume tidak lebih dari 10,0 ml dan jika asam diperlukan untuk uji atau untuk *blangko* diperlukan alkali, jumlah kedua volume yang dibutuhkan tidak lebih dari 10,0 ml.

#### UJI KINERJA WADAH <1281>

Tujuan dari lampiran ini adalah menyediakan standar untuk sifat-sifat fungsi/kegunaan wadah plastik dan komponen-komponennya yang biasa digunakan untuk kemasan produk yang diatur dengan regulasi (farmasetik, produk biologik, suplemen dan alat). Definisi yang digunakan pada lampiran ini tersedia dalam *Perlindungan, Wadah, Penyimpanan dan Penandaan* yang tertera pada *Ketentuan Umum*. Uji ini dimaksudkan untuk menetapkan permeabilitas kelembaban dan transmisi cahaya melalui wadah plastik

yang digunakan. Bagian *Wadah Satuan Ganda untuk Kapsul dan Tablet* digunakan untuk wadah satuan ganda. Bagian *Wadah Satuan Tunggal dan Wadah Dosis-Satuan untuk Kapsul dan Tablet* digunakan untuk wadah satuan tunggal dan dosis satuan. Bagian *Wadah Satuan Ganda untuk Kapsul dan Tablet (Tanpa Penutup)* digunakan untuk wadah polietilen atau polipropilen yang tidak bertutup. *Wadah Satuan Ganda dan Satuan Tunggal untuk Cairan* digunakan untuk wadah satuan tunggal dan ganda.

Suatu wadah yang dimaksudkan untuk memberikan perlindungan dari cahaya atau sebagai wadah yang resisten terhadap cahaya, memenuhi persyaratan untuk *Transmisi Cahaya*, seperti perlindungan atau resistensi yang merupakan sifat spesifik dari bahan wadah, termasuk bahan pelapis yang digunakan. Suatu wadah yang jernih, tidak berwarna atau tembus cahaya yang dibuat resisten cahaya dengan menggunakan pelapis yang tidak tembus cahaya seperti tertera pada *Ketentuan Umum* dibebaskan dari persyaratan untuk *Transmisi Cahaya*. Dalam hal ini, yang dimaksud dengan "wadah" adalah seluruh sistem yang biasanya terdiri dari wadah itu sendiri, pelapis (jika digunakan), penutup pada wadah satuan ganda dan penutup/blister pada wadah dosis satuan.

#### PERMEASI KELEMBAPAN Wadah Satuan Ganda untuk Kapsul dan Tablet

**Desikan** Tempatkan sejumlah *kalsium klorida anhidrat P* berukuran 4 - 8 mesh dalam wadah dangkal, hati-hati agar serbuk halus tidak keluar; lakukan pegeringan pada suhu 110° selama 1 jam dan dinginkan dalam desikator.

**Prosedur** Pilih 12 wadah dengan ukuran dan tipe seragam, bersihkan permukaan segel dengan kain bebas serat, tutup dan buka setiap wadah 30 kali. Tutup rapat dengan cara sama setiap kali wadah ditutup. Tutup penutup sekrup wadah dengan tenaga putaran dalam rentang kerapatan yang tertera pada *Tabel 1*. Tambahkan *Desikan* ke dalam 10 wadah uji. Isi setiap wadah hingga mencapai 13 mm dari tutup jika volume wadah 20 ml atau lebih; atau isi setiap wadah hingga 2/3 kapasitas jika volume wadah kurang dari 20 ml. Jika kedalaman wadah lebih dari 63 mm, tempatkan pengisi atau pengatur jarak inert pada dasar wadah untuk memperkecil bobot total wadah dan *Desikan*; tebal lapisan *Desikan* dalam wadah tidak kurang dari 5 cm. Tutup wadah segera setelah penambahan *Desikan* dengan tenaga putaran yang tertera dalam *Tabel 1*, pada waktu menutup sekrup wadah. Pada masing-masing dari 2 wadah sisa yang diperlakukan sebagai kontrol, tambahkan sejumlah manik kaca secukupnya, untuk memperoleh bobot lebih kurang setara dengan setiap wadah uji, tutup dengan tenaga putaran yang tertera dalam *Tabel 1*, pada waktu menutup sekrup wadah. Catat bobot masing-masing wadah yang telah disiapkan dengan ketelitian mendekati 0,1 mg, jika volume wadah

kurang dari 20 ml; ketelitian mendekati 1 mg, jika volume wadah 20 ml atau lebih tetapi kurang dari 200 ml; atau ketelitian mendekati 10 mg, jika volume wadah 200 ml atau lebih; dan simpan pada kelembapan relatif 75±3% dan pada suhu 23±2°. [Catatan Larutan jenuh dari 35 g natrium klorida P untuk setiap 100 ml air diletakkan pada dasar desikator; dapat mempertahankan kelembapan yang telah ditentukan: untuk mempertahankan kondisi ini dapat digunakan cara lain.] Setelah 336±1 jam (14 hari), catat bobot setiap wadah dengan cara yang sama. Isi penuh 5 wadah kosong, dengan ukuran dan tipe yang sama seperti wadah yang akan diuji, dengan air atau padatan yang bersifat mengalir bebas, tidak dapat dikempa seperti manik kaca yang halus dan padat, hingga tinggi yang ditunjukkan oleh permukaan penutup jika penutup ada pada tempatnya. Pindahkan setiap isi ke dalam gelas ukur; tentukan volume wadah rata-rata dalam ml. Hitung laju permeabilitas kelembapan dalam mg per hari per liter, dengan rumus:

$$\left(\frac{1000}{14V}\right) [(T_F - T_I) - (C_F - C_I)]$$

V adalah volume wadah dalam ml; (T<sub>F</sub> - T<sub>I</sub>) adalah perbedaan antara bobot akhir dan bobot awal setiap wadah uji dalam mg; dan (C<sub>F</sub> - C<sub>I</sub>) adalah perbedaan rata-rata antara bobot akhir dan bobot awal dari dua wadah kontrol dalam mg.

Pada wadah yang digunakan untuk obat yang diberikan berdasarkan resep, wadah yang diuji dinyatakan tertutup rapat jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji mempunyai permeabilitas kelembapan melebihi 100 mg per hari per liter dan tidak satupun melebihi 200 mg per hari per liter.

Pada wadah yang digunakan untuk obat yang diberikan berdasarkan resep, wadah yang diuji dinyatakan tertutup baik jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji mempunyai permeabilitas kelembapan melebihi 2000 mg per hari per liter, dan tidak satupun melebihi 3000 mg per hari per liter.

Tabel 1

Torsi yang digunakan untuk Wadah Tipe Tutup Ulir

Diameter Penutup <sup>a</sup> (mm)	Rentang Kerapatan yang disarankan dengan Tenaga Putaran secara Manual ("inch-pounds")
8	5
10	6
13	8
15	5-9
18	7-10
20	8-12
22	9-14
24	10-18
28	12-21
30	13-23
33	15-25

Diameter Penutup <sup>a</sup> (mm)	Rentang Kerapatan yang disarankan dengan Tenaga Putaran secara Manual ("inch-pounds")
38	17-26
43	17-27
48	19-30
53	21-36
58	23-40
63	25-43
66	26-45
70	28-50
83	32-65
86	40-65
89	40-70
100	45-70
110	45-70
120	55-95
132	60-95

<sup>a</sup> Untuk penutup dengan diameter diantara yang tertera pada Tabel, gunakan tenaga putaran yang ditetapkan untuk diameter yang lebih besar

#### Wadah Satuan Ganda untuk Kapsul dan Tablet (Tanpa Penutup)

**Wadah Polietilen** Pastikan wadah dengan segel kedap air yang diperoleh dari botol bersegel panas dengan lembar alumunium berlapis polietilen atau segel yang sesuai<sup>1)</sup>. Uji wadah seperti yang dinyatakan dalam *Wadah Satuan Ganda untuk Kapsul dan Tablet*: Wadah polietilen berat jenis tinggi yang diuji memenuhi persyaratan jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji mempunyai permeabilitas kelembapan melebihi 10 mg per hari per liter, dan tidak satupun melebihi 25 mg per hari per liter. Wadah polietilen berat jenis rendah yang diuji memenuhi persyaratan jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji mempunyai permeabilitas kelembapan melebihi 20 mg per hari per liter dan tidak satupun melebihi 30 mg per hari per liter.

**Wadah Polipropilen** Pastikan wadah dengan segel kedap air yang diperoleh dari botol bersegel panas dengan lembar alumunium berlapis polietilen atau segel yang sesuai. Uji wadah seperti yang dinyatakan dalam *Wadah Satuan Ganda untuk Kapsul dan Tablet*: Wadah memenuhi persyaratan jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji mempunyai permeabilitas kelembapan melebihi 15 mg per hari per liter, dan tidak satupun melebihi 25 mg per hari per liter.

#### Wadah Satuan Tunggal dan Wadah Dosis Satuan untuk Kapsul dan Tablet

Untuk dapat mencantumkan keterangan yang berkaitan dengan pengemasan yang sesuai untuk tipe produk tertentu, dibuat prosedur dan klasifikasi berikut untuk mengevaluasi sifat permeasi kelembapan wadah satuan tunggal dan wadah dosis satuan. Sesungguhnya



peralatan dan cara pengoperasian dapat mempengaruhi terbentuknya atau tertutupnya permeasi kelembaban dari suatu wadah, sifat spesifik permeasi lembab dari sistem pengemasan yang digunakan harus ditentukan.

**Desikan** Keringkan sejumlah pelet desikan pada suhu 110° selama 1 jam sebelum digunakan. Gunakan pelet yang masing-masing bobotnya lebih kurang 400 mg dan berdiameter lebih kurang 8 mm. [Catatan Jika perlu ukuran wadah dosis satuan dibatasi, pelet yang masing-masing bobotnya kurang dari 400 mg dan berdiameter kurang dari 8 mm dapat digunakan.]

### Prosedur

**Metode I** Segel tidak kurang dari 10 wadah dosis-satuan yang berisi 1 pelet per wadah dan segel 10 wadah dosis-satuan kosong sebagai kontrol. Gunakan pinset atau tang untuk memegang wadah tersegel. Beri nomor wadah dan catat bobot masing-masing hingga mg yang terdekat. Timbang wadah kontrol sebagai satu satuan dan bagi bobot total dengan jumlah wadah kontrol untuk memperoleh bobot rata-rata wadah kosong. Simpan semua wadah pada kelembaban relatif 75±3% dan suhu 23°±2°. [Catatan Larutan jenuh dari 35 g natrium klorida P untuk setiap 100 ml air diletakkan pada dasar desikator; dapat mempertahankan kelembaban yang telah ditentukan: untuk mempertahankan kondisi ini dapat digunakan cara lain.] Setelah interval 24 jam atau kelipatannya (seperti tertera pada Hasil), pindahkan wadah dari bejana dan biarkan terjadi kesetimbangan selama 15 - 60 menit di ruang penimbangan. Catat kembali bobot setiap wadah dan gabungan kontrol dengan cara sama.

<sup>1)</sup>Suatu lapisan yang sesuai untuk segel, berupa lapisan polietilen wadah tidak kurang dari 0,025 mm (0,001 inci), dengan lapisan tambahan bahan pendukung. Suatu segel yang sesuai dapat diperoleh juga dari penggunaan lempeng kaca dan suatu segel menggunakan malam yang mengandung 60% malam bentuk amorf halus dan 40% malam parafin bentuk hablur halus.

[Catatan Jika pelet menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda selama pengerjaan atau jika bobot pelet naik melebihi 10%, hentikan pengujian dan anggap penetapan terdahulu sebagai hasil yang valid.] Kembalikan wadah ke dalam bejana lembab. Hitung laju permeasi kelembaban dalam mg per hari dari tiap wadah yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{1}{N}\right) [(W_F - W_I) - (C_F - C_I)]$$

*N* adalah jumlah hari hingga akhir periode pengujian (dimulai setelah 24 jam pertama periode kesetimbangan); (*W<sub>F</sub>* - *W<sub>I</sub>*) adalah perbedaan antara bobot akhir dan bobot awal setiap wadah uji dalam mg; dan (*C<sub>F</sub>* - *C<sub>I</sub>*) adalah perbedaan rata-rata antara bobot akhir dan bobot awal wadah kontrol dalam mg, data dihitung hingga dua angka dibelakang koma. [Catatan Jika permeasi kurang dari 5 mg per hari dan jika

kontrol diamati mencapai keadaan setimbang dalam 7 hari, permeasi individu dapat ditentukan lebih saksama pada hari ke 7 menggunakan bobot wadah uji dan wadah kontrol, berturut-turut sebagai *W<sub>I</sub>* dan *C<sub>I</sub>* dalam perhitungan. Dalam hal ini, suatu interval uji yang sesuai untuk Kelas A (seperti tertera pada Hasil), tidak akan kurang dari 28 hari mulai hari ke 7 periode kesetimbangan awal (total 35 hari).]

**Metode II** Gunakan prosedur ini untuk kemasan berbentuk lempeng pipih dengan menggabungkan sejumlah wadah dosis satuan yang disegel terpisah atau blister. Segel sejumlah kemasan secukupnya, tidak kurang dari 4 kemasan dan total tidak kurang dari 10 wadah dosis satuan atau blister, masukkan 1 pelet dalam tiap satuan wadah uji. Segel sejumlah kemasan kosong, setiap kemasan mengandung wadah dosis satuan atau blister dengan jumlah sama seperti pada kemasan uji, sebagai kontrol. Simpan semua wadah pada kelembaban relatif 75±3% dan suhu 23°±2°. [Catatan Larutan jenuh dari 35 g natrium klorida P untuk setiap 100 ml air diletakkan pada dasar desikator; dapat mempertahankan kelembaban yang telah ditentukan: untuk mempertahankan kondisi ini dapat digunakan cara lain.] Setelah interval 24 jam atau kelipatannya (seperti tertera pada Hasil), pindahkan kemasan dari bejana dan biarkan terjadi kesetimbangan selama lebih kurang 45 menit. Catat bobot masing-masing kemasan dan kembalikan ke dalam bejana. Timbang kemasan kontrol sebagai suatu satuan, dan bagi bobot total dengan jumlah kemasan kontrol untuk memperoleh bobot kemasan kosong rata-rata. [Catatan Jika pelet menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda selama pengerjaan atau jika bobot pelet naik melebihi 10%, hentikan pengujian dan anggap penetapan terdahulu sebagai hasil yang valid.] Hitung laju permeasi kelembaban rata-rata, dalam mg per hari untuk tiap wadah dosis-satuan atau blister dalam setiap kemasan yang digunakan dengan rumus:

$$\left(\frac{1}{NX}\right) [(W_F - W_I) - (C_F - C_I)]$$

*N* adalah jumlah hari hingga akhir periode pengujian (dimulai setelah 24 jam pertama dari periode kesetimbangan); *X* adalah jumlah unit segel yang terpisah per kemasan; (*W<sub>F</sub>* - *W<sub>I</sub>*) adalah perbedaan antara bobot akhir dan bobot awal setiap kemasan uji dalam mg; dan (*C<sub>F</sub>* - *C<sub>I</sub>*) adalah perbedaan rata-rata antara bobot akhir dan bobot awal kemasan kontrol dalam mg, laju dihitung hingga dua angka dibelakang koma.

**Hasil** Wadah dosis satuan tunggal yang diuji menurut *Metode I* dinyatakan sebagai Kelas A jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji mempunyai laju permeabilitas kelembaban lebih dari 0,5 mg per hari dan tidak satupun lebih dari 1 mg per hari; dinyatakan sebagai Kelas B jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji melebihi 5 mg per hari dan tidak satupun lebih dari 10 mg per hari; dinyatakan sebagai Kelas C jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji

melebihi 20 mg per hari dan tidak satupun lebih dari 40 mg per hari; dinyatakan sebagai *Kelas D* jika wadah tidak memenuhi persyaratan laju permeasi kelembaban.

Kemasan yang diuji pada *Metode II* dinyatakan sebagai *Kelas A* jika tidak satupun kemasan uji mempunyai rata-rata laju permeabilitas kelembaban blister melebihi 0,5 mg per hari; dinyatakan sebagai *Kelas B* jika tidak satupun kemasan uji melebihi 5 mg per hari; dinyatakan sebagai *Kelas C* jika tidak satupun kemasan uji melebihi 20 mg per hari; dinyatakan sebagai *Kelas D* jika kemasan uji tidak memenuhi persyaratan rata-rata laju permeabilitas kelembaban blister.

Dengan penggunaan *Desikan* seperti tersebut di atas, seperti yang dinyatakan pada *Metode I* dan *Metode II*, setelah setiap 24 jam, wadah uji dan wadah kontrol atau kemasan ditimbang; dan interval uji yang sesuai untuk penimbangan akhir  $W_F$  dan  $C_F$  adalah 24 jam untuk *Kelas D*; 48 jam untuk *Kelas C*; 7 hari untuk *Kelas B*; dan tidak kurang dari 28 hari untuk *Kelas A*.

#### Wadah Satuan Ganda dan Wadah Dosis Satuan untuk Cairan

Standar dan uji yang diberikan dalam bagian ini untuk mengukur kegunaan dan kinerja dari wadah plastik yang biasa digunakan untuk kemasan sediaan berbasis air melalui pengukuran kehilangan bobot cairan air sebagai persentase kandungan. Uji ini dapat juga digunakan untuk menunjukkan kinerja atau fungsi yang dapat diperbandingkan. [Catatan Dari keseluruhan prosedur yang diikuti, tentukan bobot masing-masing wadah-sistem penutup (botol, jika digunakan segel sebelah dalam dan penutup) berturut-turut sebagai bobot tara dan bobot isi dengan ketelitian mendekati 0,1 mg jika kapasitas botol kurang dari 200 ml; ketelitian mendekati 1 mg jika kapasitas botol 200 ml atau lebih tetapi kurang dari 1000 ml; atau ketelitian mendekati 10 mg jika kapasitas botol 1000 ml atau lebih.]

**Prosedur** Pilih 12 botol dengan ukuran dan tipe seragam, bersihkan permukaan segel dengan kain bebas serat. Pastikan setiap botol dengan 1 penutup ulir (jika digunakan) atau penutup. Beri nomor setiap wadah-sistem penutup dan catat bobot tara.

Buka penutup dan isi 10 botol dengan air sampai penuh dengan menggunakan pipet. Isi 2 wadah yang lain dengan manik-manik gelas dengan bobot setara dengan wadah yang diisi air. Pastikan botol dengan segel dan gunakan penutup. Jika menggunakan penutup sekrup, gunakan tenaga putaran dalam rentang kerapatan yang tertera pada *Tabel 1*. Simpan semua wadah bersegel pada suhu  $25 \pm 2^\circ$  dan kelembaban relatif  $40 \pm 2\%$ . Setelah  $336 \pm 1$  jam (14 hari), catat bobot masing-masing wadah. Hitung laju permeasi uap air, dalam persen kehilangan bobot air per tahun untuk setiap botol yang digunakan dengan rumus:

$$100 \left( \frac{(W_{1i} - W_T) - (W_{14i} - W_T) - (WC_1 - WC)_{14}}{(W_{1i} - W_T)_{14}} \right) \times 365$$

$W_{1i}$  adalah bobot awal masing-masing wadah;  $W_T$  adalah bobot tara;  $W_{14i}$  adalah bobot masing-masing wadah pada hari ke 14; dan  $(WC_1 - WC)_{14}$  adalah bobot rata-rata perubahan kontrol dari awal sampai hari ke-14. Wadah yang diuji memenuhi persyaratan wadah tertutup rapat jika tidak lebih 1 dari 10 wadah uji, kehilangan bobot air melebihi 2,5% per tahun dan tidak satupun melebihi 5,0% per tahun.

#### UJI TRANSMISI CAHAYA

**Alat** Gunakan spektrofotometer dengan sensitivitas dan akurasi yang sesuai untuk pengukuran sejumlah cahaya yang ditransmisikan oleh kaca atau bahan kaca tembus cahaya yang digunakan untuk wadah farmasetik. Selain itu, spektrofotometer mampu mengukur dan merekam difusi cahaya yang ditransmisikan sama baik dengan sinar paralel.

**Prosedur** Pilih bagian yang mewakili ketebalan rata-rata. Potong 2 atau lebih secara sirkular bagian wadah dan buat garis untuk memberikan tanda bagian dari ukuran yang tepat untuk tempat spesimen dalam spektrofotometer. Cuci dan keringkan setiap spesimen, jaga agar permukaan tidak tergores. Jika spesimen terlalu kecil untuk menutupi tempat spesimen yang terbuka, tutup bagian yang tidak tertutup dengan kertas tidak tembus cahaya atau pita penutup, hal ini memberikan panjang spesimen yang lebih besar dari celah spektrofotometer. Segera sebelum ditempatkan pada tempat spesimen, usap spesimen dengan kertas lensa. Tempatkan spesimen dengan bantuan malam atau alat lain yang tepat, jaga agar sidik jari yang tertinggal atau tanda lain pada permukaan tidak terlewat oleh jalan cahaya. Tempatkan bagian dalam spektrofotometer dengan aksis silindris yang paralel terhadap bidang celah dan lebih kurang di pusat celah. Jika ditempatkan dengan baik, berkas cahaya yang sampai ke permukaan, hanya sedikit (minimum) yang dipantulkan.

Ukur berturut-turut transmittan bagian tersebut dengan pembandingan terhadap udara dalam daerah spektra yang diinginkan dengan pembacaan instrumen atau pada interval lebih kurang 20 nm dengan instrumen manual dalam rentang antara 290 dan 450 nm.

**Batas** Transmisi cahaya yang diamati tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel 2* untuk wadah penggunaan parenteral.

**Tabel 2**  
Batas untuk Kelas Plastik I sampai VI

Ukuran Nominal (ml)	Persentase Maksimum Transmisi Cahaya pada berbagai Panjang Gelombang antara 290 dan 450 nm	
	Wadah yang ditutup dengan pemanasan	Wadah dengan penutup segel
1	50	25
2	45	20

5	40	15
10	35	13
20	30	12
50	15	10

[Catatan Tiap wadah berukuran diantara ukuran yang tertera pada Tabel menunjukkan transmisi yang tidak lebih besar dari transmisi wadah berukuran lebih besar berikutnya. Untuk wadah lebih besar dari 50 ml, gunakan batas untuk 50 ml.]

Transmisi cahaya yang diamati pada wadah plastik untuk pemberian oral dan topikal, tidak lebih dari 10% pada berbagai panjang gelombang dalam rentang antara 290 dan 450 nm.

## WARNA DAN AKROMISITAS <1291>

### Metode 1

**Definisi Warna** dalam hal ini didefinisikan sebagai persepsi atau respon subjektif seorang pengamat terhadap rangsangan objektif energi sinar pada spektrum cahaya tampak pada panjang gelombang 400 - 700 nm. Warna yang tampak jelas merupakan fungsi dari tiga variabel, yaitu sifat spektrum benda, serapan dan refleksi; sifat spektrum sumber iluminasi dan sifat visual dari pengamat.

Dua benda disebut memiliki warna sepadan untuk iluminasi tertentu bila seorang pengamat tidak dapat membedakan perbedaan warna tersebut. Bila sepasang benda menunjukkan warna yang sepadan terhadap satu sumber iluminasi dan tidak dengan yang lain, keduanya merupakan pasangan metamerik. Warna yang sepadan dari dua benda terjadi untuk semua sumber iluminasi bila spektrum serapan dan reflektans dari dua benda tersebut sama.

Akromisitas atau ketidakberwarnaan adalah suatu skala warna transmisi cahaya yang ekstrim. Hal itu berarti tidak ada warna, dan oleh karena itu spektrum cahaya tampak benda tersebut kurang memberikan serapan. Untuk tujuan praktis, bila pengamat menyatakan sedikit atau tidak sama sekali terjadi penyerapan dalam spektrum cahaya tampak.

**Sifat-sifat warna** Karena sensasi warna dapat bersifat subjektif dan objektif, warna tidak dapat digambarkan hanya dalam batasan-batasan spektrofotometrik saja. Oleh karena itu sifat-sifat umum suatu warna tidak dapat dikaitkan langsung dengan terminologi spektrum.

Tiga sifat yang umum digunakan untuk mengidentifikasi suatu warna adalah (1) Warna atau kualitas yang membedakan satu golongan warna dari lainnya seperti merah, kuning, biru hijau dan warna-warna diantaranya, (2) Nilai atau kualitas yang membedakan warna gelap terhadap terang, (3) Intensitas warna, atau kualitas yang membedakan warna kuat terhadap yang lemah atau sejauh mana suatu warna berbeda dari nilai yang sama.

Ketiga sifat warna dapat digunakan untuk menetapkan ruang warna tiga dimensi berdasarkan koordinatnya. Ruang warna yang dipilih adalah ruang warna dengan keseragaman secara visual, bila jarak geometrik antara dua warna dalam ruang warna merupakan ukuran langsung jarak warnanya. Koordinat silindris sering merupakan pilihan yang sesuai.

Titik-titik di sepanjang aksis panjang menunjukkan nilai dari gelap ke terang atau dari hitam ke putih, memiliki warna yang tidak dapat ditetapkan dan tanpa intensitas warna. Dengan menggunakan perpotongan garis tegak lurus terhadap aksis nilai, warna ditetapkan berdasarkan sudut sepanjang aksis panjang dan intensitas warna ditetapkan berdasarkan jarak aksis panjang. Merah, kuning, hijau, biru, ungu dan warna-warna diantaranya diperoleh dari perbedaan sudutnya. Warna sepanjang radius dari perpotongan memiliki warna yang sama, tetapi intensitas akan meningkat dengan bertambahnya jarak. Contoh: air tidak berwarna atau jernih memiliki warna yang tidak dapat ditetapkan, nilai tinggi dan tanpa intensitas warna. Bila suatu zat berwarna yang larut ditambahkan, air menjadi berwarna. Lebih banyak ditambahkan, warna menjadi lebih gelap, lebih kuat, lebih tua, dengan demikian intensitas warna umumnya bertambah dan nilainya berkurang. Jika zat yang larut berwarna netral, yaitu abu-abu, nilai akan berkurang, tidak ada peningkatan intensitas warna yang teramat dan warna tetap tidak dapat ditetapkan.

Pengukuran secara spektroskopik dapat dikonversikan menjadi pengukuran ketiga sifat warna. Hasil spektroskopik ketiga cahaya atau stimulus terpilih diberi bobot oleh ketiga fungsi distribusi hingga menghasilkan nilai tristimulus X, Y, Z seperti tertera pada *Pengukuran Warna dengan Instrumen <1341>*. Fungsi distribusi ditetapkan berdasarkan percobaan perbandingan warna dengan subyek manusia.

Nilai tristimulus bukan merupakan koordinat dalam ruang warna dengan keseragaman secara visual; namun beberapa transformasi telah diusulkan sebagai pendekatan bentuk keseragaman, diantaranya seperti tertera pada *Pengukuran Warna dengan Instrumen <1341>*. Nilai tersebut sering merupakan fungsi nilai Y saja. Untuk memperoleh keseragaman dalam sub ruang warna dan intensitas, belum memuaskan. Secara praktis hal ini berarti bahwa dalam membandingkan warna secara visual dari dua benda yang warnanya berbeda secara berarti, sulit memutuskan intensitas warna mana yang lebih tinggi. Dengan demikian adalah penting membandingkan warna baku terhadap contoh sedekat mungkin, terutama untuk sifat-sifat warna dan intensitas warna.

**Penetapan warna dan baku** Pengertian warna dan kesepadanan warna tergantung pada kondisi-kondisi pandangan dan iluminasi. Penetapan harus menggunakan iluminasi baur dan seragam pada kondisi yang dapat mengurangi bayangan dan reflektans non spektral sampai tingkat minimum. Permukaan serbuk harus dihaluskan dengan tekanan ringan sehingga diperoleh permukaan yang datar bebas dari ketidakaturan.

Cairan harus dibandingkan dalam tabung pembanding warna yang sepadan, dengan latar belakang putih. Jika hasil yang diperoleh bervariasi menurut iluminasinya, hasil yang diperoleh dari cahaya alam atau cahaya buatan pada siang hari dianggap yang benar. Selain penetapan secara visual dapat digunakan metode peralatan yang sesuai.

Baku warna harus sedekat mungkin terhadap warna bahan uji untuk penetapan kuantitatif perbedaan warna. Baku untuk bahan tidak tembus cahaya tersedia secara komersial. Larutan padanan untuk membandingkan warna-warna cairan dapat dibuat menurut *Tabel* berikut. Untuk membuat larutan padanan yang diperlukan, pipet sejumlah volume larutan uji kolorimetri (seperti tertera pada *Larutan Kolorimetri (LK)*) dan air ke dalam salah satu tabung pembanding, campur. Buat pembanding sesuai dengan yang tertera pada masing-masing monografi dibawah kondisi pengamatan. *Larutan padanan* atau campuran larutan kolorimetri lain, dapat digunakan dengan kadar sangat rendah untuk mengukur deviasi akromisitas.

**Tabel 1 Larutan Padanan Metode 1**

Larutan padanan	Bagian Kobalt(II) klorida LK	Bagian Besi (III) klorida LK	Bagian Tembaga (II)sulfat LK	Bagian Air
A	0,1	0,4	0,1	4,4
B	0,3	0,9	0,3	3,5
C	0,1	0,6	0,1	4,2
D	0,3	0,6	0,4	3,7
E	0,4	1,2	0,3	3,1
F	0,3	1,2	0,0	3,5
G	0,5	1,2	0,2	3,1
H	0,2	1,5	0,0	3,3
I	0,4	2,2	0,1	2,3
J	0,4	3,5	0,1	1,0
K	0,5	4,5	0,0	0,0
L	0,8	3,8	0,1	0,3
M	0,1	2,0	0,1	2,8
N	0,0	4,9	0,1	0,0
O	0,1	4,8	0,1	0,0
P	0,2	0,4	0,1	4,3
Q	0,2	0,3	0,1	4,4
R	0,3	0,4	0,2	4,1
S	0,2	0,1	0,0	4,7
T	0,5	0,5	0,4	3,6

**Metode II**

**Definisi** Larutan dinyatakan tidak berwarna jika mempunyai penampilan seperti air atau pelarut atau warnanya tidak lebih kuat dari *Larutan padanan U9*.

**Penetapan warna** Gunakan tabung yang sama, tidak berwarna, tembus pandang, kaca netral, dengan diameter luar 12 mm, bandingkan 2,0 ml dari larutan yang diuji dengan 2,0 ml air atau pelarut atau *Larutan padanan (Tabel Larutan Padanan Induk Metode II dan Metode*

*III, Larutan padanan U, Larutan Padanan V, Larutan padanan W, Larutan padanan X, Larutan padanan Y)* yang dinyatakan dalam monografi. Bandingkan warna dalam cahaya baur dengan mengamati secara horisontal terhadap latar belakang putih.

**Penyimpanan** Simpan *Larutan padanan* dalam tabung yang disegel, tidak berwarna, transparan, kaca netral dengan diameter luar 12 mm dan terlindung cahaya.

**Metode III**

**Definisi** Larutan dinyatakan tidak berwarna jika mempunyai penampilan seperti air atau pelarut atau warnanya tidak lebih kuat dari *Larutan padanan U9*.

**Penetapan warna** Gunakan tabung yang sama, tidak berwarna, tembus pandang, kaca netral, dengan alas datar dan diameter dalam 15 - 25 mm, bandingkan 40 mm lapisan larutan yang diuji dengan 40 ml lapisan air atau pelarut atau *Larutan padanan (Tabel Larutan Padanan Induk Metode II dan Metode III, Larutan Padanan U, Larutan Padanan V, Larutan padanan W, Larutan Padanan X, Larutan Padanan Y)* yang dinyatakan dalam monografi. Bandingkan kolom cairan dalam cahaya baur dengan mengamati dari atas terhadap latar belakang putih.

**Penyimpanan** Buat *Larutan padanan* segera sebelum digunakan dari *Larutan padanan induk*.

**Tabel Larutan Padanan Induk Metode II dan Metode III**

Larutan padanan Induk	Kobalt(II) klorida LK (ml)	Besi (III) klorida LK (ml)	Tembaga (II) sulfat LK (ml)	Asam klorida 1% b/v (ml)
U	30	30	24	16
V	10	24	4	62
W	6	24	0	70
X	2	96	2	0
Y	20	10	0	70

**Tabel Larutan Padanan U**

Larutan padanan	Larutan padanan induk U (ml)	Asam klorida 1% b/v (ml)
U1	75,0	25,0
U2	50,0	50,0
U3	37,5	62,5
U4	25,0	75,0
U5	12,5	87,5
U6	5,0	95,0
U7	2,5	97,5
U8	1,5	98,5
U9	1,0	99,0

**Tabel Larutan Padanan V**

Larutan padanan	Larutan padanan induk V (ml)	Asam klorida 1% b/v (ml)
V1	100,0	0
V2	75,0	25,0
V3	50,0	50,0
V4	25,0	75,0
V5	12,5	87,5
V6	5,0	95,0
V7	2,5	97,5

**Tabel Larutan Padanan W**

Larutan padanan	Larutan padanan induk W (ml)	Asam klorida 1% b/v (ml)
W1	100,0	0
W2	75,0	25,0
W3	50,0	50,0
W4	25,0	75,0
W5	12,5	87,5
W6	5,0	95,0
W7	2,5	97,5

**Tabel Larutan Padanan X**

Larutan padanan	Larutan padanan induk X (ml)	Asam klorida 1% b/v (ml)
X1	25,0	75,0
X2	15,0	85,0
X3	8,5	91,5
X4	5,0	95,0
X5	3,0	97,0
X6	1,5	98,5
X7	0,75	99,25

**Tabel Larutan Padanan Y**

Larutan padanan	Larutan padanan induk Y (ml)	Asam klorida 1% b/v (ml)
Y1	100,0	0
Y2	75,0	25,0
Y3	50,0	50,0
Y4	37,5	62,5
Y5	25,0	75,0
Y6	12,5	87,5
Y7	5,0	95,0

**ZAT LARUT DALAM AIR <1301>**

Gunakan *Metode I* kecuali dinyatakan lain pada monografi

**Metode I**

Didihkan 7 g zat dengan 700 ml air selama 30 menit sambil sering diaduk dan tambahkan air yang hilang karena penguapan. Enaptuangkan cairan ke dalam gelas piala, tekan hati-hati sisa air yang tertinggal pada bahan dengan batang pengaduk, campur larutan dan saring ekstrak selagi panas. Uapkan 400 ml dan keringkan residu sampai bobot tetap pada suhu 100° - 105°.

**Metode II**

Keringkan 5 g zat sampai bobot tetap pada suhu 105° dan tetapkan kehilangan bobot. Tambahkan 400 ml air, panaskan perlahan dan didihkan selama 1 menit, dinginkan dengan penambahan lebih kurang 400 ml air dan enaptuangkan cairan melalui penyaring dengan ukuran lubang 106 µm, peras bahan dengan tangan untuk menghilangkan cairan sebanyak mungkin; kembalikan bahan ke dalam wadah dan ulangi pencucian lima kali, tiap kali dengan 400 ml air dengan cara yang sama. Masukkan bahan dan benang atau serat yang terlepas dari penyaring ke dalam gelas piala, tambahkan larutan diastase 0,5%, panaskan dan pertahankan suhu pada 70° atau jika bahan mengandung wol pada suhu 45° - 50°, sampai bebas pati. Enaptuangkan cairan melalui penyaringan, kembalikan serat atau benang yang terlepas yang tertahan pada penyaring kepada bahan di dalam wadah, ulangi pencucian dengan air mendidih dan kembalikan lagi serat atau benang yang terlepas pada bahan. Keringkan bahan dan tetapkan kehilangan bobot.

Untuk krep katun, dikurangkan dari kehilangan bobot 3% dari bobot contoh akhir yang telah dikeringkan; jika bahan berwarna, dikurangkan 1%; untuk pembalut krep, dikurangkan 2%.

Hitung persentase zat larut dalam air terhadap bahan yang dikeringkan sampai bobot tetap pada suhu 105°.

**ZAT LARUT DALAM ETER <1311>**

Masukkan 5 g ke dalam alat Soxhlet, ekstraksi dengan eter *P* selama 4 jam, atur alat sedemikian rupa sehingga laju tidak kurang dari 4 ekstraksi per jam. Uapkan ekstrak eter dan keringkan residu sampai bobot tetap pada suhu 100° - 105°, kecuali dinyatakan lain dalam monografi.

**INDIKATOR BIOLOGIK UNTUK STERILISASI <1321>**

Indikator biologik secara luas didefinisikan sebagai produk terkarakteristik dari mikroba spesifik yang resisten terhadap proses sterilisasi tertentu. Beberapa mikroorganisme yang secara luas dikenal sesuai sebagai indikator biologik adalah bakteri pembentuk spora yang secara nyata lebih resisten dibandingkan mikroflora

normal, kecuali dengan proses radiasi ionisasi. Indikator biologik digunakan untuk:

- membantu kualifikasi kinerja alat sterilisasi, dalam pengembangan dan penetapan proses sterilisasi yang tervalidasi untuk bahan tertentu.
- proses yang menghasilkan produk steril dalam wadah atau kemasan akhir, juga untuk sterilisasi peralatan, bahan, dan komponen kemasan yang digunakan pada proses aseptik.
- memantau siklus sterilisasi yang pernah dilakukan dan revalidasi proses sterilisasi secara berkala.
- mengevaluasi kemampuan proses dekontaminasi isolator atau lingkungan ruang bersih.

Prinsip dan persyaratan untuk aplikasi ini dijelaskan dalam *Sterilisasi dan Jaminan Sterilitas Bahan Kompendia* <1361>.

### JENIS INDIKATOR BIOLOGIK

Terdapat sedikitnya tiga jenis indikator. Masing-masing jenis indikator mengandung satu jenis spesies mikroba yang telah diketahui resistensi sterilisasinya terhadap cara sterilisasi. Beberapa indikator biologik dapat juga mengandung dua spesies yang berbeda dan jumlah mikroba.

Salah satu bentuk indikator biologik termasuk spora yang ditambahkan pada suatu pembawa (kertas saring berbentuk cakram atau strip; kaca, plastik atau bahan lain) dan dikemas sedemikian rupa agar dapat mempertahankan integritas dan viabilitas pembawa yang diinokulasi.

Pembawa dan kemasan primer harus tidak mengandung kontaminan (fisik, kimia atau mikroba) yang akan berdampak pada kinerja atau stabilitas karakteristik dari indikator biologik. Pembawa dan kemasan primer harus tidak terdegradasi oleh proses sterilisasi tertentu, yang akan mempengaruhi kinerja indikator biologik. Pembawa harus tidak terpengaruh selama transportasi dalam kemasan primer dan sekunder serta penanganan pada saat penggunaan. Desain pembawa dan kemasan primer harus meminimalkan kehilangan inokula asli pada waktu transportasi, penanganan, dan penyimpanan selama belum kedaluwarsa.

Bentuk lain dari indikator biologik adalah suspensi spora yang diinokulasi pada atau ke dalam unit yang mewakili betas yang disterilkan. Hal ini menunjukkan sediaan yang diinokulasi; akan tetapi dapat digunakan simulasi sediaan yang diinokulasi, apabila tidak praktis untuk menginokulasi sediaan sebenarnya. Simulasi sediaan adalah sediaan yang dibuat dengan satu atau beberapa perbedaan dari sediaan yang sebenarnya, tetapi kinerjanya sama seperti sediaan bila menggunakan kondisi uji dan proses sterilisasi yang sebenarnya. Suspensi spora dengan nilai D yang telah diketahui digunakan untuk menginokulasi sediaan sebenarnya atau sediaan simulasi. Apabila digunakan sediaan simulasi yang diinokulasi, maka harus dibuktikan bahwa itu tidak

akan menurunkan resistensi sterilisasi dari indikator biologik. Desain fisik sediaan sebenarnya atau sediaan simulasi dapat mempengaruhi resistensi suspensi spora yang diinokulasikan pada atau ke dalam sediaan. Pada kasus sediaan cair yang diinokulasi, sering disarankan untuk menetapkan kedua nilai D dan z dari mikroba indikator biologik spesifik pada sediaan cair tertentu. Bila perlu hendaknya ditentukan populasi, nilai D, nilai z dan titik akhir waktu kematian yang digunakan pada sediaan sebenarnya atau sediaan simulasi yang diinokulasi.

Bentuk ketiga dari indikator biologik adalah indikator "self-contained". Indikator biologik "self-contained" didesain sehingga kemasan primer yang ditujukan untuk inkubasi setelah proses sterilisasi, mengandung media pertumbuhan untuk menumbuhkan kembali mikroba yang terpapar. Bentuk indikator biologik bersama dengan media pertumbuhan "self-contained" dapat dianggap satu sistem. Pada kasus indikator biologik "self-contained", seluruh sistem memberikan resistensi terhadap proses sterilisasi.

Apabila indikator biologik adalah strip atau cakram kertas pada kemasan "self-contained" yang mengandung media kultur, bentuk kemasannya seharusnya dapat dipenetrasi oleh agen pensteril. Untuk memberikan "time lag" agar agen pensteril mencapai mikroba yang terkandung dalam sistem, nilai D, proses titik akhir waktu kematian dan waktu bertahan hidup pada sistem harus dikarakterisasi, dan hal ini tidak hanya berlaku untuk strip kertas pada unit "self-contained". Setelah proses sterilisasi, strip atau cakram spora dicelupkan ke dalam media "self-contained", sehingga memungkinkan kontak media dengan kultur.

Indikator biologik "self-contained" juga dapat terdiri dari suspensi spora pada medianya sendiri, dan seringkali juga mengandung pewarna yang dapat menunjukkan pertumbuhan positif atau negatif setelah inkubasi. Resistensi sistem "self-contained" tergantung pada penetrasi dari agen pensteril ke dalam kemasan. Penetrasi dapat dikontrol oleh industri melalui berbagai desain dan komposisi dari bentuk kemasan, ampul atau wadah. Ampul yang mengandung indikator biologik "self-contained" dapat langsung diinkubasi setelah terpapar proses sterilisasi. Seluruh sistem kemudian diinkubasi di bawah kondisi tertentu. Ada atau tidaknya pertumbuhan spora yang diberi perlakuan ditetapkan secara visual (dengan mengamati perubahan warna tertentu dari indikator yang dimasukkan dalam media atau dengan kekeruhan) atau dengan pengamatan mikroskopik dari media yang diinokulasi.

Karakteristik dari resistensi sistem *self-contained* juga harus sesuai dengan etiket dan monografi indikator biologik yang relevan. Sistem indikator biologik "self-contained" harus tidak terpengaruh selama transportasi dalam kemasan sekunder dan penanganan pada saat penggunaan tanpa rusak. Desain indikator biologik "self-contained" hendaknya sedemikian rupa sehingga meminimalkan kehilangan inokula mikroba asli selama transportasi dan penanganan. Selama atau sesudah proses sterilisasi, bahan yang digunakan dalam sistem

“self-contained” harus tidak menyisakan atau mengeluarkan zat yang dapat menghambat pertumbuhan sejumlah kecil mikroba indikator yang bertahan hidup pada kondisi pertumbuhan. Tahapan yang tepat harus dilakukan untuk membuktikan bahwa media untuk rekoveri dapat mempertahankan sifat yang mendukung pertumbuhan setelah terpapar proses sterilisasi.

### Penyiapan

Seluruh kegiatan yang berhubungan dengan penyiapan indikator biologik dikendalikan dengan sistem dokumen mutu. Ketertelusuran dipelihara untuk semua bahan dan komponen yang tergabung dalam atau yang masuk kontak langsung dengan suspensi mikroba, pembawa yang diinokulasi atau indikator biologik.

Penyiapan stok suspensi spora mikroba tertentu yang digunakan sebagai indikator biologik memerlukan pengembangan prosedur yang sesuai meliputi perbanyakan biakan, pemanenan, pemurnian, dan pemeliharaan suspensi spora. Stok suspensi harus mengandung terutama spora dorman (tidak bergerminasi) yang disimpan dalam cairan tidak bernutrisi.

Produk akhir (suspensi mikroba, pembawa terinokulasi atau indikator biologik) yang disediakan oleh industri harus tidak mengandung mikroba selain mikroba uji, dalam jumlah yang cukup untuk mempengaruhi produk. Sistem untuk meminimalkan keberadaan mikroba selain mikroba indikator biologik dalam produk harus divalidasi, dipantau dan dicatat.

### Pemilihan Proses Sterilisasi Spesifik

Pemilihan indikator biologik memerlukan pengetahuan resistensi sistem indikator biologik terhadap proses sterilisasi spesifik. Harus dibuktikan bahwa sistem indikator biologik memberikan suatu ketahanan terhadap proses sterilisasi yang melebihi ketahanan mikroba alami yang ada dalam atau pada produk.

Penggunaan indikator biologik yang efektif untuk pengembangan siklus, proses dan validasi produk dan pemantauan produksi rutin dari sebuah proses sterilisasi membutuhkan pengetahuan yang menyeluruh atas produk yang akan disterilisasi dan komponennya (bahan dan kemasan). Hanya indikator biologik yang dikenal secara luas yang disebutkan dalam monografi indikator biologik yang dapat digunakan pada pengembangan atau validasi proses sterilisasi. Hal ini menjamin bahwa indikator biologik yang dipilih memberikan ketahanan yang lebih besar terhadap proses sterilisasi dibandingkan jumlah mikroba dalam atau pada produk. Beberapa pengguna mungkin membutuhkan indikator biologik dengan karakteristik yang berbeda dari yang beredar luas secara komersial. Pada kasus seperti ini, pengguna dapat menumbuhkan kultur spora sendiri dalam penyiapan indikator biologik buatan sendiri untuk digunakan sendiri. Pada kasus seperti itu, pengguna sangat

disarankan untuk menggunakan mikroba yang telah dinyatakan pada literatur ilmiah sebagai mikroba indikator dan pengguna harus mempunyai kemampuan menentukan nilai D dan z untuk indikator biologik buatan sendiri. Jika indikator biologik disiapkan sendiri, pengguna harus mengkonfirmasi populasi, kemurnian dan masa hidup indikator biologik tersebut untuk menjamin validitas setiap uji yang menggunakan indikator biologik buatan sendiri. Jika digunakan bentuk proses sterilisasi berdasarkan bioburden, data perbandingan resistensi antara indikator biologik terhadap bioburden sangat penting. Diperlukan juga penghitungan bioburden yang terkandung dalam bahan yang akan disterilkan. Proses ini harus menghasilkan kematian secara biologi terverifikasi yang memadai untuk mencapai suatu kemungkinan diperolehnya unit nonsteril kurang dari satu dalam sejuta.

Sebagai alternatif, metode “overkill” dapat digunakan dalam desain proses sterilisasi. Pada kasus ini, asumsi khusus dibuat berdasarkan asumsi resistensi yang digunakan dalam menetapkan persyaratan proses sterilisasi. Secara umum, semua proses “overkill” berdasarkan asumsi bahwa “bioburden” setara dengan satu juta mikro badan yang mempunyai resistensi tinggi sehingga untuk mencapai persyaratan probabilitas dari unit nonsteril yaitu kurang dari satu dalam satu juta, minimum diperlukan proses 12 D. Proses 12 D didefinisikan sebagai proses yang memberikan kematian yang cukup untuk menghasilkan penurunan 12 log, yaitu setara dengan 12 kali nilai D terhadap mikroba dengan resistensi yang lebih tinggi dibandingkan resistensi rata-rata “bioburden”. Karena “bioburden” diasumsikan sebagai satu juta, pada praktek sesungguhnya proses “overkill” akan menghasilkan probabilitas nonsteril lebih kecil dari  $10^{-6}$ . Rancangan dan evaluasi proses “overkill” dapat berbeda tergantung proses sterilisasi dalam pengujian. Penggunaan rancangan “overkill” dan pendekatan validasi dapat meminimalkan atau meniadakan kebutuhan identifikasi dan perhitungan “bioburden”.

**Panas basah** Untuk sterilisasi panas basah, spora dari strain *Bacillus stearothermophilus* tersedia secara komersil sebagai indikator biologik dan sering digunakan. Mikroba pembentuk spora lain yang tahan pemanasan seperti *Clostridium sporogenes*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus coagulans* juga telah digunakan dalam pengembangan dan validasi proses sterilisasi panas basah.

**Panas kering** Untuk sterilisasi panas kering, spora *Bacillus subtilis* spp. dapat digunakan untuk validasi proses. Selama validasi proses sterilisasi panas kering, pengkajian depirogenasi endotoksin biasanya dilakukan sebagai pengganti dari pengkajian inaktivasi mikroba selama penentuan siklus sterilisasi karena kecepatan inaktivasi endotoksin tersebut lebih lambat dibandingkan kecepatan inaktivasi spora *Bacillus subtilis*. Pada praktek penurunan titer endotoksin oleh 3 log atau lebih akan

berakibat dalam proses yang juga mencapai probabilitas unit nonsteril lebih rendah dari  $10^{-6}$ .

**Radiasi ionisasi** Spora *Bacillus pumilus* telah digunakan untuk memantau proses sterilisasi menggunakan radiasi ionisasi, akan tetapi hal ini tidak praktis. Metode pengaturan dosis radiasi yang tidak menggunakan indikator biologik telah digunakan secara luas untuk melakukan proses radiasi. Disamping itu "bioburden" mikroba tertentu dapat menunjukkan resistensi yang lebih besar terhadap radiasi dibandingkan *Bacillus pumilus*

**Etilen oksida** Untuk sterilisasi etilen oksida, biasa digunakan spora sub spesies *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* var. *niger*). Sistem indikator biologik yang sama pada umumnya digunakan apabila etilen oksida 100% atau etilen oksida yang berbeda dan sistem pembawa gas digunakan sebagai pensteril.

**Hidrogen Peroksida Fase Uap ("Vapor Phase Hydrogen Peroxide")/VPHP** Proses ini telah menunjukkan sebagai pensteril atau dekontaminan permukaan yang efektif. VPHP mampu mencapai sterilisasi (probabilitas nonsteril kurang dari satu dalam satu juta) jika kondisi proses tertentu dan target yang disterilisasi disusun dengan memadai. VPHP juga biasa digunakan sebagai agen dekontaminan permukaan pada perlakuan uji sterilitas, wadah bahan biologi atau kimia, isolator pabrik dan ruang steril.

Dekontaminasi permukaan adalah sebuah proses yang berbeda dari sterilisasi yang mengandung bahan yang bersentuhan dengan produk, wadah sistem tertutup atau produk. Proses ini dirancang untuk memberi lingkungan yang bebas dari mikroba yang dapat terdeteksi atau yang dapat hidup kembali. Akan tetapi pada kasus

dekontaminasi, nilai penurunan spora 3 sampai 4 log memadai karena sasarannya adalah lebih kepada dekontaminasi dibanding sterilisasi.

*Bacillus stearothermophilus* paling banyak digunakan sebagai indikator biologik untuk validasi VPHP. Mikroba lain yang dapat digunakan sebagai indikator biologik dalam proses VPHP adalah spora dari *Bacillus subtilis* dan *Clostridium sporogenes*. Mikroba lain dapat dipertimbangkan jika respons terhadap VPHP sama dengan mikroba yang disebutkan di atas.

Spora dapat diinokulasi pada permukaan berbagai sistem yang kedap air seperti permukaan kaca, logam atau plastik. Permukaan dengan daya serap tinggi seperti substrat fiber atau substrat lain yang dapat menyerap VPHP atau lembab dapat memberi pengaruh merugikan terhadap kadar VPHP untuk inaktivasi mikroba yang diinokulasi. Substrat kertas tidak digunakan karena VPHP akan mendegradasi bahan yang mengandung selulosa.

Karakteristik yang mewakili indikator biologik yang tersedia secara komersil tertera pada *Tabel 1*.

Indikator biologik juga dapat dikemas secara individu dalam sebuah kemasan primer terbungkus secara memadai yang tidak berpengaruh merugikan pada kinerja indikator dan dapat ditembus oleh VPHP. Bahan serat poliolefin telah terbukti sesuai sebagai pengemas indikator biologik yang dimaksudkan untuk penggunaan dalam evaluasi proses VPHP. Bahan yang sudah dikemas dapat mempermudah penanganan laboratorium untuk indikator biologik setelah paparan VPHP. Penggunaan bahan pengemas

**Tabel 1 Karakteristik Spesifik Sistem Indikator Biologik Komersil**

Cara sterilisasi	Contoh dari nilai D khas (menit)	Rentang nilai D untuk seleksi indikator biologik yang sesuai (menit)	Batas untuk resistensi yang sesuai (bergantung pada nilai D tertentu [menit])	
			Waktu bertahan hidup	Waktu kematian
Pemanasan kering <sup>a</sup>	1,9	Min. 1,0	Min. 4,0	10,0
		Maks. 3,0	Maks. 14,0	32,0
<b>Etilen Oksida<sup>b</sup></b>				
600 mg /L	3,5	Min. 2,5	Min. 10,0	25,0
		Maks. 5,8	Maks. 27,0	68,0
60% RH%				
<b>Panas basah<sup>c</sup></b>				
121°	1,9	Min. 1,5	Min. 4,5	13,5
		Maks. 3,0	Maks. 14,0	32,0

<sup>a</sup> Untuk  $1,0 \times 10^6$  sampai dengan  $5,0 \times 10^6$  spora per pembawa

<sup>b</sup> Untuk  $1,0 \times 10^6$  sampai dengan  $5,0 \times 10^7$  spora per pembawa

<sup>c</sup> Untuk  $1,0 \times 10^6$  sampai dengan  $5,0 \times 10^8$  spora per pembawa



indikator biologik VPHP harus diperiksa secara cermat untuk memastikan bahwa, setelah pemaparan VPHP, hidrogen peroksida tidak tersisa pada bahan kemasan, yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba selama tahap pemulihan. Nilai D mikroba akan dipengaruhi oleh adanya efek laju inaktivasi relatif daribahan pengemas indikator biologik dan adanya potensi sisa VPHP. Jika digunakan indikator biologik (pembawa terinokulasi) tanpa kemasan primer, perlu diperhatikan teknik aseptik yang benar.

## EVALUASI KINERJA

### Tanggung Jawab Produsen

Karakteristik kinerja dari indikator biologik yang diberikan pada pengguna merupakan tanggung jawab produsen. Produsen hendaknya menyediakan sertifikat analisis untuk setiap lot indikator biologik yang membuktikan keabsahan pernyataan kinerja indikator biologik yang tertulis pada etiket kemasan atau dimasukkan dalam kemasan. Produsen hendaknya menjelaskan proses sterilisasi indikator biologik yang akan digunakan untuk evaluasi. Karakterisasi dari setiap jenis indikator biologik yang menjadi dasar untuk pernyataan pada etiket, harus dilakukan oleh produsen menggunakan alat khusus dan terstandar pada kondisi yang ditetapkan secara tepat.<sup>1</sup> Produsen juga hendaknya memberikan informasi mengenai nilai D, metode penentuan nilai D, jumlah mikroba dan stabilitas ketahanan indikator biologik sebelum waktu kedaluwarsa yang tertera pada etiket. Kondisi penyimpanan yang optimum hendaknya ditetapkan oleh produsen, termasuk suhu, kelembaban relatif dan persyaratan lainnya untuk penyimpanan terkendali. Data yang diperoleh dari berbagai uji kinerja yang diperlukan hendaknya ditulis dalam sisipan kemasan atau pada etiket kemasan indikator biologik. Produsen hendaknya memberikan petunjuk penggunaan, termasuk media dan kondisi yang digunakan untuk pemulihan mikroba setelah terpapar proses sterilisasi. Cara pemusnahan harus disediakan oleh produsen indikator biologik tersebut.

### Tanggung Jawab Pengguna

**Produk Komersil** Jika indikator biologik dibeli dari sumber komersil, kesesuaiannya untuk penggunaan pada proses sterilisasi spesifik sebaiknya ditetapkan melalui pengkajian pengembangan proses sterilisasi kecuali jika telah tersedia data untuk penggunaan pada proses sterilisasi. Pengguna sebaiknya menetapkan sendiri kriteria keberterimaan untuk lot indikator biologik dan mempertimbangkan penolakan apabila suatu lot indikator

biologik tidak mencapai standar kinerja yang telah ditetapkan. Sertifikat kinerja sebaiknya diperoleh dari masing-masing lot indikator dan pengguna sebaiknya melakukan audit terhadap fasilitas pabrik dan kinerja prosedur secara rutin. Jika tidak diperoleh sertifikat dan audit belum dilakukan atau jika indikator biologik digunakan diluar yang dinyatakan dalam etiket dari pabrik, verifikasi dan dokumentasi kinerja pada kondisi penggunaan harus tersedia.

Pada saat penerimaan awal indikator biologik dari pemasok komersil, pengguna sebaiknya memverifikasi kemurnian dan morfologi mikroba indikator biologik yang dibeli. Verifikasi yang diperlukan minimal sampai kebenaran genus dan juga sebaiknya dilakukan perhitungan jumlah mikroba untuk menentukan rata-rata tiap unit indikator biologik. Pernyataan pabrik yang berkaitan dengan rentang nilai D, kondisi penyimpanan, waktu kedaluwarsa dan stabilitas indikator biologik sebaiknya diperhatikan dan dicatat. Pengguna dapat mempertimbangkan untuk melakukan penilaian nilai D sebelum menerima lot tertentu. Laboratorium yang mempunyai kemampuan melakukan pengujian kinerja nilai D dapat melakukan penentuan nilai D menggunakan satu dari tiga metode yang tertera pada *Penetapan Nilai D* dalam *Uji Kinerja Resistensi Indikator Biologik <65>* dan pada monografi yang sesuai untuk indikator biologik khusus. Jika dilakukan penyimpanan dalam jangka waktu lama perlu dilakukan verifikasi nilai D dan sistem perhitungan stabilitas indikator biologik yang digunakan.

Pada keadaan dimana spora dipelihara lebih dari 12 bulan di bawah kondisi penyimpanan yang terdokumentasi, harus dilakukan analisis jumlah dan resistensi spora, kecuali jika kinerja panen induk asli telah tervalidasi untuk penyimpanan yang lebih lama. Hasil uji angka spora dan resistensi sebaiknya berada dalam rentang keberterimaan yang ditetapkan selama penerimaan awal dari lot panen spora.

**Produk Nonkomersil** Pengguna dapat memilih untuk memperbanyak mikroba dalam pengembangan indikator biologik buatan sendiri untuk pengembangan atau validasi proses sterilisasi. Jika pengguna membuat indikator biologik, persyaratan kinerja indikator biologik harus dipenuhi. Jika sistem indikator biologik digunakan untuk pengembangan proses sterilisasi baru atau validasi proses yang sudah ada, kriteria kinerja yang sama seperti dijelaskan untuk pabrik komersil indikator biologik harus dipenuhi.

## PERSIAPAN PANENAN SPORA

Umumnya indikator biologik menggunakan spora mikroba, oleh karena itu rekaman yang akurat tentang identifikasi panen spora harus didokumentasikan oleh pabrik indikator biologik komersil dan nonkomersil. Rekaman ini sebaiknya mencakup rekaman yang berkaitan dengan sumber awal kultur, identifikasi, ketertelusuran pada panen spora induk, frekuensi subkultur, media yang digunakan untuk sporulasi, perubahan penyiapan media, pengamatan kontaminasi

<sup>1</sup> Tertera pada *Peralatan dalam Uji Kinerja Resistensi Indikator Biologik <65>*. Peralatan ini telah dirancang untuk memberikan kondisi fisik yang konsisten dan dapat diaplikasikan terhadap karakterisasi indikator biologik. Harus dinyatakan karakteristik kinerja yang diperlukan.

panenan dan data sebelum dan sesudah pemanasan ekstrim. Rekaman pemakaian panen spora dan resistensi terhadap sterilisasi (yaitu nilai D dan nilai z jika memungkinkan) sebaiknya juga didokumentasikan.

### Peralatan

Peralatan yang digunakan untuk evaluasi resistensi sterilisasi panen spora harus konsisten dengan standar yang ada yang berhubungan dengan evaluasi kinerja sistem indikator biologik.

Peralatan untuk penetapan nilai D mikroba yang terpapar VPHP sebaiknya dapat mengendalikan secara ketat parameter operasional lain dari yang tertera pada *Uji Kinerja Resistensi Indikator Biologik* <65>. Perlu diperhatikan jaminan kemampuan menghasilkan kadar VPHP secara konsisten, diberikan dalam waktu yang terbatas, dan dipertahankan dalam rentang kadar tertentu atau rentang tekanan VPHP untuk menetapkan penambahan waktu yang diperlukan. Indikator biologik yang dimasukkan dalam kadar yang tetap pada kondisi VPHP sebaiknya melalui suatu sistem yang memungkinkan pemasukan dan pelepasan unit kerja secara cepat dari ruangan. Rancangan ruang uji sebaiknya memungkinkan pencapaian kadar dan tekanan VPHP yang tetap, atau penggunaan jumlah tertentu volume VPHP yang mengalir pada tekanan dan suhu yang ditetapkan. Saat ini, peralatan pengukur kadar VPHP tidak digunakan secara luas. Oleh karena itu, kondisi pemaparan perlu didasarkan pada tekanan VPHP tetap atau hasil laju alir dari berat awal hidrogen peroksida yang telah diketahui, ditambahkan ke dalam ruangan dalam waktu tertentu. Berdasarkan informasi ini, volume tertentu ruangan yang telah diketahui, perhitungan perkiraan kadar VPHP dapat dilakukan. Jika keseluruhan kondisi dipertahankan secara tetap selama penilaian masing-masing nilai D yang digunakan, perbandingan resistensi relatif antara lot indikator biologik yang berbeda dapat ditentukan.

### PENGGUNAAN DALAM PROSES VALIDASI

Tanpa memperhatikan cara sterilisasi, jumlah populasi mikroba awal, resistensinya terhadap sterilisasi dan tempat inokulasi pada atau di dalam produk dapat mempengaruhi kecepatan inaktivasi indikator biologik.

Pada produk yang mengandung mikrobaantang, beberapa posisi dari produk sebaiknya diinokulasi dengan indikator biologik. Sebagai contoh, jika sebuah wadah dengan sistem tertutup disterilisasi, larutan produk dan penutupnya dapat ditantang untuk menjamin sterilisasi sebanding dengan  $10^{-6}$  (probabilitas unit nonsteril satu dalam satu juta) tingkat jaminan sterilisasi (*Sterilization Assurance Level*, SAL) akan diperoleh pada larutan dan juga pada penutup.

Sebelumnya perlu dilakukan pengkajian laboratorium apakah komponen produk lebih sulit untuk disterilisasi daripada sediaannya. Tergantung pada lokasi komponen produk yang paling sulit untuk disterilisasi, parameter

proses yang berbeda dapat diterapkan dalam menjamin inaktivasi mikroba terhadap  $10^{-6}$  SAL. Fase kualifikasi kinerja produk hendaknya mengidentifikasi parameter proses yang penting untuk inaktivasi mikroba pada bagian yang paling sulit untuk disterilkan. Jika parameter proses yang penting ini telah ditetapkan, selama sterilisasi pada proses validasi produk, sebaiknya dioperasikan pada kondisi kurang dari kondisi yang dinyatakan pada spesifikasi proses sterilisasi. Kelangsungan hidup indikator biologik didasarkan pada resistensi dan populasi. Sehingga,  $10^{-6}$  populasi indikator biologik tidak selalu dipersyaratkan untuk menghasilkan  $10^{-6}$  SAL. Penggunaan indikator biologik yang semestinya adalah menggunakannya untuk mengkonfirmasi bahwa hasil parameter proses yang dikembangkan berada dalam SAL yang diinginkan. Pada sterilisasi basah, indikator biologik digunakan untuk membuktikan bahwa kematian yang terukur secara fisik dapat diverifikasi secara biologi. Indikator biologik dengan nilai D yang sebenarnya dan populasi yang sebenarnya kurang dari  $10^6$  cukup untuk validasi beberapa proses sterilisasi dan dekontaminasi. Penting bahwa pengguna dapat menetapkan pemilihan indikator biologik secara ilmiah.

### PENCUCIAN PERALATAN KACA <1331>

Keberhasilan dalam melakukan pengujian dan penetapan kadar dalam farmakope tergantung sepenuhnya pada kebersihan peralatan kaca yang digunakan. Sebagai contoh, akurasi penetapan kadar heparin natrium, aktivitas vitamin B<sub>12</sub>, uji pirogen dan karbon organik total, terutama tergantung pada kebersihan peralatan kaca.

Pada masa lalu salah satu cara yang paling efektif untuk membersihkan peralatan kaca adalah dengan asam nitrat panas. Metode konvensional lain untuk membersihkan bahan organik yang tidak memerlukan panas adalah menggunakan campuran asam sulfat-asam kromat. Penggunaan pencuci asam kromat tidak dianjurkan karena sifat bahan yang berbahaya dan beracun.

Beberapa alternatif yang lebih aman, termasuk penggunaan bahan pencuci, seperti trinitrat fosfat dan detergen sintetik, telah terbukti sangat berguna, tetapi memerlukan pembilasan yang lebih lama. Mungkin lebih mudah untuk membilas menggunakan asam nitrat encer atau asam sulfat sebelum pembilasan dengan air. Sistem ini akan menghilangkan residu bahan yang bersifat basa.

Untuk alat kaca yang digunakan pada pengukuran optik, perlu penanganan khusus untuk pembersihan wadah, penggunaan asam kromat maupun larutan alkali pekat hendaknya dihindari,

Pembersihan bahan organik yang efektif sangat penting pada pengujian air untuk penggunaan farmasi dalam hubungannya dengan pengujian *Karbon Organik Total* <875>. Telah terbukti bahwa detergen sintetik dengan kalium hidroksida sebagai komponen utama meninggalkan paling sedikit residu bahan organik. Pemanasan dalam cawan pemijar memberikan hasil yang

sebanding dan merupakan prosedur yang ringkas, tetapi memerlukan peralatan khusus.

Pada semua kasus, sangat penting untuk memverifikasi prosedur pembersihan yang sesuai untuk uji dan penetapan kadar yang dilakukan. Hal ini dapat dilakukan melalui penggunaan blangko, penjelasan ilmiah, data residu bahan pembersih dari produsen, atau kontrol lainnya. Terutama, penanganan khusus diperlukan untuk pembersihan wadah yang digunakan untuk pengukuran secara optik: hindari penggunaan alkali pekat dan tidak diajarkan penggunaan larutan asam kromat. Perlu dicantumkan pernyataan dalam protokol pencucian yang menjelaskan bagaimana menilai pencucian yang baik.

### PENGUKURAN WARNA DENGAN INSTRUMEN <1341>

Warna yang diamati dari suatu benda tergantung pada energi spektral iluminasi, sifat menyerap benda dan kepekaan visual pengamat terhadap rentang cahaya tampak seperti tertera pada *Warna dan Akromisitas* <1291>. Penting untuk diperhatikan bahwa metode pengukuran warna dengan instrumen yang digunakan secara luas harus memperhitungkan juga faktor-faktor tersebut di atas.

Pengukuran warna dengan instrumen memberikan data yang lebih obyektif daripada pengamatan subyektif oleh beberapa orang. Dengan pemeliharaan dan kalibrasi instrumen yang memadai, metode ini memberikan pengukuran warna dan perbedaan warna yang tepat dan akurat yang tidak berubah dengan perbedaan waktu pengukuran. Dasar pengukuran warna dengan instrumen adalah bahwa mata manusia telah dibuktikan untuk mendeteksi warna melalui tiga reseptor. Karena itu semua warna dapat dibagi ke dalam campuran tiga stimuli cahaya yang dapat dipilih dan sesuai untuk merangsang ketiga reseptor dalam mata. Walaupun tidak ada satu perangkatpun sumber cahaya yang dapat digunakan untuk menyepadankan semua warna (misal untuk setiap tiga cahaya yang dipilih, beberapa warna memerlukan suatu jumlah negatif dari satu atau lebih cahaya), tiga stimuli yang dapat berubah telah ditetapkan, sehingga memungkinkan untuk menetapkan semua warna yang sebenarnya. Melalui percobaan perbandingan warna yang luas dengan pengamat manusia yang mempunyai penglihatan warna normal, telah diukur koefisien distribusi untuk tiap panjang gelombang daerah cahaya tampak (400 - 700 nm) yang memberikan jumlah relatif stimulasi pada tiap reseptor yang disebabkan oleh cahaya dari panjang gelombang bersangkutan. Koefisien distribusi ini,  $(\bar{x}, \bar{y}, \bar{z})$  dapat dilihat pada *Gambar*. Demikian juga untuk setiap warna, jumlah rangsangan pada tiap reseptor di mata dinyatakan oleh pasangan *Nilai Tristimulus* ( $X, Y, Z$ ) untuk warna tersebut.

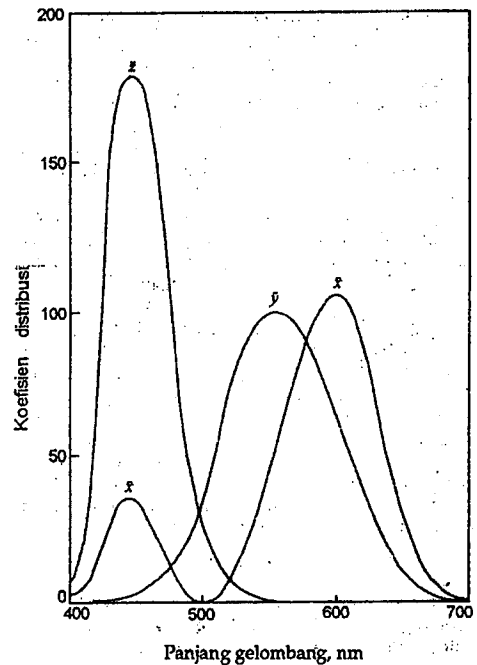
Hubungan antara koefisien distribusi (lihat *Gambar*) dan nilai tristimulus diberikan dalam persamaan berikut:

$$X = \int \frac{\bar{x}_\lambda P_\lambda d\lambda}{Y'}$$

$$Y = \int \frac{\bar{y}_\lambda P_\lambda d\lambda}{Y'}$$

$$Z = \int \frac{\bar{z}_\lambda P_\lambda d\lambda}{Y'}$$

$Y' = \int \bar{y}_\lambda P_\lambda d\lambda$  ;  $P_\lambda$  adalah daya spektral pencahayaan, dan  $\bar{f}_\lambda$  adalah reflektans spektral ( $P_\lambda$ ) atau transmitans spektral ( $\tau_\lambda$ ) dari bahan.



Koefisien Distribusi dari 400 nm sampai 700 nm

Begitu nilai tristimulus warna telah ditetapkan, nilai itu dapat digunakan untuk menghitung koordinat warna dalam ruang warna tiga dimensi yang ideal sebagai ruang warna yang seragam secara visual. Banyak persamaan warna telah dikembangkan dalam usaha menentukan ruang warna. Persamaan yang dituliskan dalam bagian ini merupakan kesepakatan antara kesederhanaan perhitungan dengan yang ideal.

Koordinat warna dalam ruang warna yang seragam secara visual dapat digunakan untuk menghitung deviasi warna dari titik pembanding warna yang dipilih. Jika metode pengukuran warna dengan instrumen digunakan untuk menetapkan hasil suatu pengujian yang memerlukan pembandingan warna antara sediaan uji dan larutan pembanding atau baku, parameter yang dibandingkan adalah perbedaan antara warna blangko dan warna sediaan uji atau baku dalam ruang warna yang seragam secara visual.

### Prosedur

Pertimbangan yang dibahas dalam *Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya* <1191> dapat ditetapkan juga pada pengukuran warna dengan instrumen. Dalam metode spektrofotometri, nilai reflaktans atau nilai transmitans diperoleh pada panjang gelombang yang berbeda sepanjang spektrum cahaya tampak, menggunakan suatu lebar pita 10 nm atau kurang. Nilai-nilai ini kemudian digunakan faktor pembobotan. Pada metode kolorimetri, pembobotan diperoleh melalui penggunaan filter.

Pada pengukuran reflaktans spektral zat padat tidak tembus cahaya, sudut pengamatan dipisahkan dari sudut pencahayaan sedemikian rupa, sehingga hanya cahaya terefleksi secara difusi yang dipancarkan dari bahan uji memasuki reseptor. Refleksi yang lain dan penyimpangan cahaya tidak diukur.

Untuk pengukuran transmitans spektral cairan jernih, cairan disinari dalam batas 5 derajat dari normal terhadap permukaannya, dan energi transmisi yang diukur adalah dalam batas 5 derajat dari normal. Warna cairan berubah dengan ketebalan lapisan yang diukur. Kecuali dinyatakan lain harus digunakan ketebalan lapisan 1 cm.

Metode ini tidak dapat digunakan untuk cairan keruh atau zat padat tembus cahaya.

### KALIBRASI

Untuk tujuan kalibrasi salah satu dari bahan pembanding berikut dapat digunakan, sebagaimana dibutuhkan pada geometri instrumen. Untuk pengukuran transmitans, air murni dapat digunakan sebagai baku putih dan ditetapkan transmitans 1,000 pada semua panjang gelombang. Kemudian nilai trimulus  $X$ ,  $Y$  dan  $Z$  untuk C sumber CIE masing-masing 98,0; 100,0; dan 118,1. Untuk pengukuran reflaktans dapat digunakan lempeng porselen yang tidak tembus cahaya, yang dasar kalibrasinya adalah reflektor difusi sempurna dan karakteristik reflaktansnya telah ditetapkan untuk geometri instrumen yang dapat digunakan. Bila geometri yang ditunjukkan bahan uji mengganggu penggunaan lempeng tersebut, dapat digunakan barium sulfat yang ditekan dengan kualitas baku reflaktans putih.

Setelah kalibrasi dengan bahan tersebut di atas, sebaiknya bila mungkin ukur bahan pembanding yang warnanya sedapat mungkin mendekati warna contoh.

Bila contoh bahan uji tidak sesuai untuk digunakan sebagai baku jangka panjang, dapat digunakan keping warna yang seragam secara visual dalam bagian yang kecil. Penggunaan baku pembanding seperti ini dianjurkan untuk memantau kinerja alat sekalipun untuk penetapan warna absolut.

### METODE SPEKTROFOTOMETRI

Tetapkan reflaktans atau transmitans dari 380 - 770 nm dengan interval 10 nm. Nyatakan hasil dalam presentase, dengan maksimum 100,0. Hitung nilai tristimulus  $X$ ,  $Y$  dan  $Z$  sebagai berikut.

**Bahan Refleksi** Untuk bahan refleksi jumlah  $X$ ,  $Y$  dan  $Z$  adalah

$$X = \sum_{380}^{770} \frac{\rho_{\lambda} \bar{x}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta \lambda}{Y'}$$

$$Y = \sum_{380}^{770} \frac{\rho_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta \lambda}{Y'}$$

$$Z = \sum_{380}^{770} \frac{\rho_{\lambda} \bar{z}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta \lambda}{Y'}$$

$Y' = \sum_{380}^{770} \bar{y}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta \lambda$ ;  $\rho_{\lambda}$  adalah reflaktans spektral bahan,  $\bar{x}_{\lambda} P_{\lambda}$ ,  $\bar{y}_{\lambda} P_{\lambda}$  dan  $\bar{z}_{\lambda} P_{\lambda}$  adalah nilai yang diketahui dari tiap sumber baku, dan  $\Delta \lambda$  dinyatakan dalam nm.

**Bahan Transmisi** Untuk bahan transmisi, jumlah  $X$ ,  $Y$  dan  $Z$  dihitung dengan cara diatas,  $\tau_{\lambda}$  (transmitans spektral) sebagai pengganti untuk  $\rho_{\lambda}$ .

### METODE KOLOMETRI

Atur kolorimeter yang sesuai untuk memperoleh nilai yang setara nilai tristimulus  $X$ ,  $Y$  dan  $Z$ . Ketepatan dapat ditunjukkan dalam memperoleh hasil dari filter kolorimeter sepadan dengan nilai tristimulus lempeng warna jenuh yang kuat dan membandingkan nilai tersebut dengan hasil perhitungan dari pengukuran spektral pada spektrofotometer.

### Interpretasi KOORDINAT WARNA

Koordinat warna,  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$  didefinisikan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} L^* &= 116 (Y/Y_0)^{1/3} - 16 \\ a^* &= 500 [X/X_0]^{1/3} - (Y/Y_0)^{1/3} \\ b^* &= 200 [(Y/Y_0) - (Z/Z_0)^{1/3}] \end{aligned}$$

$X_0$ ,  $Y_0$  dan  $Z_0$  adalah nilai tristimulus dari baku tidak berwarna atau putih dan  $Y/Y_0 > 0,01$ . Umumnya nilai tersebut setara dengan nilai tristimulus dari pencahayaan baku dengan  $Y_0$  dibuat setara 100,0. Dalam hal ini  $X_0 = 98,0$  dan  $Z_0 = 118,1$ .

### PERBEDAAN WARNA

Jumlah Perbedaan warna  $\Delta E$  adalah:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

$\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  dan  $\Delta b^*$  adalah perbedaan dalam koordinat warna dari bahan yang akan dibandingkan. Walaupun perbandingan yang dipercaya dapat dibuat antara warna yang serupa yang diukur bersamaan, hasil yang diperoleh dengan instrumen berbeda atau dalam kondisi operasional

yang berbeda harus dibandingkan secara hati-hati. Jika diperlukan untuk membandingkan data yang diperoleh dari instrumen yang berbeda atau yang dicatat pada waktu yang berbeda atau kondisi lain yang berbeda, akan sangat membantu untuk memperoleh data secara bersamaan. Perbandingan hasil pembacaan pada bahan pembanding membantu untuk identifikasi perbedaan yang diakibatkan oleh instrumen.

## **PENIMBANGAN PADA TIMBANGAN ANALITIK <1342>**

Penimbangan adalah tahap yang sering dilakukan pada prosedur analitik dan timbangan adalah perlengkapan penting laboratorium analisis. Namun, penimbangan adalah sumber kesalahan umum yang sulit dideteksi pada hasil akhir analisis. Bab ini berlaku untuk timbangan elektronik; oleh karena itu, bagian tertentu bab ini tidak sesuai untuk jenis timbangan lain. Prosedur penimbangan terdiri dari tiga langkah dasar yaitu: persiapan, pemeriksaan timbangan, dan penimbangan bahan.

### **PERSIAPAN**

Langkah awal adalah mengumpulkan peralatan yang sesuai seperti wadah untuk penimbangan, wadah untuk bahan setelah ditimbang, pinset, pipet, spatula dengan ukuran yang sesuai, dan sebagainya. Gunakan ukuran wadah yang tidak melampaui kapasitas beban timbangan. Pastikan wadah yang digunakan untuk menimbang bahan, bersih dan kering. Kumpulkan bahan kimia berupa pereaksi atau larutan yang dibutuhkan.

Perlu disiapkan juga bahan yang akan ditimbang. Bahan mungkin perlu digerus dan dikeringkan. Beberapa bahan perlu dipanaskan atau disimpan di lemari pendingin. Bahan perlu disesuaikan dengan suhu ruang penimbangan sebelum ditimbang. Untuk menghindari kondensasi kelembaban, bahan yang didinginkan harus disesuaikan dengan suhu ruang sebelum wadah dibuka.

### **PEMERIKSAAN TIMBANGAN**

Langkah selanjutnya yang penting untuk diingat yaitu timbangan diperiksa setiap sebelum penimbangan, karena kesalahan mudah terjadi yang menyebabkan kesalahan pada data analitik. Pengguna timbangan seharusnya mengecek lingkungan timbangan, kalibrasi, dan ketidakpastian timbangan. Jangan menganggap bahwa timbangan ditinggalkan kondisi benar oleh pengguna sebelumnya.

#### **Lingkungan timbangan**

Timbangan ditempatkan pada tempat yang sesuai dengan getaran dan aliran udara yang rendah. Timbangan harus memiliki pasokan listrik yang stabil. Timbangan dan sekitar area kerja harus dijaga rapi dan tertib. Cara yang baik bila akan melakukan penimbangan, gunakan

kuas atau yang setara untuk membersihkan pan timbangan dari bahan yang tertinggal pada penimbangan sebelumnya. *[Catatan Setiap personil harus membersihkan remah, membuang bahan yang tumpah atau kertas dan memindahkan barang-barang yang digunakan untuk pengukuran.]* Apabila suatu timbangan dipindahkan harus diikuti dengan penyesuaian suhu lingkungan baru dan dikalibrasi ulang.

### **Kalibrasi**

Jika perlu, nyalakan tombol power dan biarkan timbangan untuk disetimbangan sekurang-kurangnya 1 jam sebelum proses kalibrasi. (Timbangan mikro mungkin membutuhkan 24 jam untuk mencapai kesetimbangan). Jika timbangan mati dan hidup kembali, timbangan jenis tertentu akan menampilkan pesan yang mengindikasikan bahwa timbangan harus dikalibrasi sebelum penimbangan. Jika operator menyentuh bar timbangan, pesan akan hilang dan timbangan akan menunjukkan nilai 0, akan tetapi timbangan tidak akan memberikan penimbangan yang benar sampai timbangan dikalibrasi. Timbangan analitik elektronik memiliki sistem kalibrasi internal berdasarkan beban. Kalibrasi dilakukan pada suhu ruang.

### **Ketidakpastian timbangan**

#### **PENGURANGAN PENYIMPANGAN**

Penyimpangan adalah salah satu kesalahan yang sering terjadi, dan juga salah satu yang paling mudah untuk dikurangi atau dihilangkan. Penyimpangan timbangan dapat terjadi tanpa operator menyadari masalahnya. Lakukan pemeriksaan terhadap sampel, timbangan dan lingkungan laboratorium untuk menelusuri dan menetapkan penyebab kesalahan dan menghilangkannya:

1. Pintu timbangan dibuka.
2. Suhu timbangan dan bahan yang ditimbang tidak sama.
3. Pengurangan sampel atau penambahan bobot.
4. Timbangan baru saja dipindahkan tapi belum disesuaikan dengan lingkungan baru dan dikalibrasi ulang.
5. Aliran udara yang ada di laboratorium.
6. Suhu dalam laboratorium berubah-ubah.
7. Timbangan tidak ditempatkan pada tempat yang rata sesuai penyipat datar ("water-pass").
8. Kegiatan laboratorium yang menimbulkan getaran.
9. Gangguan mekanis yang terjadi selama penimbangan.

#### **GANGGUAN MEKANIS**

Gangguan pada timbangan disebabkan oleh peregangannya pegas yang berlebihan dan terutama karena memuat terlalu banyak atau penyetoran sesuatu secara tidak sengaja diatas pan timbangan. Timbangan mikro sangat sensitif terhadap beban yang banyak dan guncangan. Saat menggunakan timbangan mikro, atur tuas ke posisi istirahat saat penambahan atau pemindahan bahan; putar tuas ke posisi menimbang untuk menunjukkan berat. Untuk beberapa kasus penyimpangan

karena gangguan, dapat dihilangkan dengan membiarkan timbangan tanpa penimbangan cukup lama untuk kembali pulih. Jika peregangan pegas berlebihan, diperlukan pemeriksaan timbangan yang lebih teliti. Dalam kasus perbaikan kekuatan elektronik timbangan, pegas akan diganti dengan bahan lentur dan massa "creep" lebih tahan terhadap gangguan.

#### PROSEDUR JAMINAN MUTU UNTUK PENGUKURAN GANGGUAN TIMBANGAN

Dalam waktu yang lama, gangguan timbangan dan perubahan lain dari hari ke hari diperiksa dengan menimbang anak timbangan baku secara periodik: pemeriksaan ini hendaknya dilakukan setelah timbangan dikalibrasi pada suhu laboratorium. Pemeriksaan ini sebaiknya dilakukan sebelum penimbangan pertama pada hari tersebut atau setelah kejadian yang mungkin mengganggu kalibrasi timbangan (kegagalan daya, perpindahan timbangan ke lokasi baru, dll). Anak timbangan baku berbentuk sesuatu dengan massa yang tetap dan stabil dan tidak melebihi batas beban timbangan. Bobot yang setimbang membuat anak timbangan baku dapat diandalkan. Tiap timbangan seharusnya dilengkapi dengan anak timbangan baku yang disimpan pada wadah yang terlindung dekat timbangan. Prosedur dibawah ini untuk mengurangi kesalahan timbangan dan kemungkinan kesalahan pembacaan karena penyimpangan:

1. Pastikan daya listrik pada timbangan hidup dan posisi penyipat datar berada di tengah indikator.
2. Lakukan kalibrasi timbangan analitik atau timbangan mikro. *[Catatan Beberapa timbangan memiliki tuas kalibrasi yang akan kembali pada posisi penimbangan asal. Jangan bergantung pada kalibrasi sebelumnya.]*
3. Setiap hari orang pertama yang menggunakan timbangan hendaknya menimbang anak timbangan baku dan mencatatnya dalam "logbook" untuk perbandingan dengan pembacaan sebelumnya. Jika diketahui penyimpangan lebih besar dari ketentuan maka harus dilaporkan untuk diperbaiki. *[Catatan Anak timbangan baku cenderung untuk bertambah bobot selama penyimpanan disebabkan kesalahan penanganan dan paparan kontaminan di lingkungan. Anak timbangan ini dapat dibersihkan dengan menyeka menggunakan kain yang dibasahi sedikit pelarut yang tepat seperti dietil eter.]*

**Timbangan analitik** Pilih massa anak timbangan baku yang sesuai untuk memeriksa timbangan analitik. Jika mungkin atur timbangan untuk membaca sampai lima desimal. Ikuti petunjuk dari pabrik. Ambil anak timbangan baku dengan pinset, tempatkan hati-hati pada pan timbangan dan timbang. *[Catatan Jangan menjatuhkan anak timbangan baku pada pan timbangan karena dapat menyebabkan kerusakan timbangan.]* Tempatkan beban pada tengah pan untuk menghilangkan perbedaan sudut penimbangan. Akurasi bobot tidak penting: faktor yang menjadi perhatian adalah apakah terjadi penyimpangan. Jika penyimpangan tidak terjadi

nilai seharusnya stabil. Penimbangan periodik anak timbangan baku akan menentukan apakah papan (atau tepi pisau pada timbangan mekanik) pada alat dalam kondisi baik. Pemeriksaan penyimpangan pada posisi yang paling sensitif akan menunjukkan kelainan: variasi berat yang diamati tidak melebihi  $\pm 0,2$  mg. Contoh dengan berat 20 gram jika nilai rerata yang terbaca 19,9984 toleransi dari 19,9982 sampai dengan 19,9986 gram. Oleh karena itu, harus dilakukan beberapa pembacaan sebelum menetapkan toleransi. *[Catatan Anak timbangan baku tidak perlu akurasi tinggi tapi yang penting bahwa massa stabil. Sebagai tambahan, toleransi tidak berhubungan dengan nilai 0,1%, seperti tertera pada Timbangan dan Anak Timbangan <41> untuk penimbangan bahan secara akurat. Toleransi bertujuan untuk menyatakan kemungkinan gangguan atau kesalahan kalibrasi; toleransi ini dengan mudah dicapai oleh timbangan elektronik modern.]*

**Timbangan mikro** Lakukan seperti pada Timbangan analitik, tetapi gunakan anak timbangan baku yang sesuai untuk timbangan khusus. Contoh, anak timbangan baku 100 mg dapat dipilih untuk timbangan yang batas beban 150 mg atau anak timbangan baku 10 mg dapat digunakan untuk timbangan ultramikro dengan batas beban 15 mg (operator harus tahu kapasitas maksimum timbangan untuk memilih anak timbangan baku yang benar). Timbangan menunjukkan bobot dalam mg, catat bobot segera pada saat pembacaan stabil untuk beberapa detik. Variasi penimbangan seharusnya dengan rentang yang sepadan dengan spesifikasi yang diberikan oleh pabrik tetapi tidak lebih dari 0,1% jumlah jenis bahan yang ditimbang. Contoh, jika 10 mg sampel secara rutin ditimbang, variasi pada penimbangan anak timbangan baku tidak melebihi 0,01 mg.

#### PENIMBANGAN BAHAN

Langkah terakhir ini, pemilihan angka desimal diperlukan untuk prosedur analitik. Kebanyakan analisis farmasi menggunakan sejumlah kecil bahan, yang memerlukan pembacaan timbangan hingga lima desimal untuk mencapai akurasi yang diperlukan. Pembacaan penimbangan dengan empat desimal lebih disukai untuk penimbangan mendekati jumlah dalam gram. Jangan membiarkan bahan tersisa pada timbangan untuk waktu yang lama karena dapat terjadi perubahan disebabkan oleh interaksi dengan air atau karbon dioksida di udara.

#### Batas beban

Pilih timbangan yang tepat untuk jumlah dan akurasi yang dibutuhkan. Tiap timbangan memiliki batas beban yang seharusnya tidak dilampaui. Tiap pabrik timbangan menyediakan kondisi maksimum beban, dan batas tersebut bervariasi tergantung jenis timbangan. Operator harus mengetahui batas tersebut sehingga timbangan tidak rusak. *[Catatan Timbangan elektronik bekerja dengan prinsip "load cell" yang menghasilkan keluaran*

*elektrik sebanding dengan pergerakan "strain gauge" dan linier pada rentangnya.]*

### Wadah

Wadah yang tepat untuk bahan yang ditimbang harus dipilih. Bobot wadah ditambah bobot yang diukur tidak boleh melebihi beban maksimum timbangan; ukuran dan bentuk wadah seharusnya sesuai dengan ruang dan pan timbangan tanpa mengganggu kegiatan penimbangan. Hal yang penting adalah wadah dalam keadaan bersih dan kering. Wadah yang umum adalah botol timbang, corong timbang, labu, dan kertas timbang. Wadah yang benar tergantung pada jumlah dan tipe bahan yang akan ditimbang (cairan, padatan atau serbuk). Bejana dengan massa yang rendah sebaiknya dipilih saat menimbang sejumlah kecil bahan. Disarankan menggunakan sarung tangan, pinset, atau alat jenis lain saat menangani wadah karena minyak dari tangan dapat menambah bobot.

Corong timbang merupakan wadah yang paling memuaskan, karena dapat berfungsi sebagai cawan timbang dan sebagai corong pemindah, sehingga memudahkan pemindahan ke dalam labu tentukur. Corong timbang tersedia dalam berbagai ukuran: pilihlah ukuran yang sesuai untuk penimbangan.

Kertas timbang dapat digunakan untuk zat padat. Wadah kertas harus ditangani dengan hati-hati untuk menghindari tumpahan.

### Penimbangan dengan Perbedaan

Penimbangan biasanya dilakukan dengan perbedaan. Metode berikut dapat digunakan untuk hasil analitik yang baik:

#### METODE 1

Tara wadah kosong seperti berikut. Tempatkan wadah pada timbangan di tengah pan, dan tekan tombol tara pada timbangan. Operasi ini secara elektrik mengatur sinyal dari "strain gauge" ke 0 sehingga bobot wadah tidak ikut ditimbang. Tambahkan bahan yang ditimbang ke dalam wadah dan catat bobot. Pindahkan bahan yang sudah ditimbang ke dalam wadah akhir kemudian timbang kembali wadah asli dengan menempatkan wadah ke posisi sama pada pan. *[Catatan Jangan mengubah pengaturan tara timbangan antara dua penimbangan.]* Bobot kedua mewakili bahan yang tidak terpindahkan dan dikurangkan terhadap jumlah bobot bahan yang ditimbang untuk menentukan bobot bahan yang dipindahkan.

#### METODE 2

Jika wadah kosong tidak ditara, tambahkan bahan yang ditimbang ke dalam wadah dan tempatkan wadah pada timbangan di tengah pan. Catat bobot dan pindahkan bahan yang ditimbang ke dalam wadah akhir. Kemudian timbang kembali wadah awal dengan mengembalikan pada posisi sama pada pan. Bobot kedua menunjukkan

jumlah bobot wadah dan bahan yang tidak terpindahkan, kurangkan terhadap jumlah total bobot bahan dan wadah untuk menentukan bobot bahan yang dipindahkan.

### METODE 3

Metode ini menjelaskan pemindahan kuantitatif. Bahan yang ditimbang ditambahkan pada wadah yang telah ditara, jumlah ditentukan oleh selisih diantaranya dan kemudian seluruh bahan dipindahkan secara kuantitatif (contoh menggunakan pelarut) ke wadah akhir.

### PROSEDUR KEAMANAN PENANGANAN BAHAN

Operator harus mengetahui tindakan pencegahan seperti dijelaskan dalam lembar keselamatan kerja bahan sebelum penimbangan. Bahan berbahaya harus ditangani dalam wadah tertutup yang memiliki filtrasi udara yang tepat. Banyak bahan mungkin sangat toksik, menyebabkan alergi dan mungkin berupa cairan atau partikel halus. Masker yang menutupi hidung dan mulut seharusnya digunakan untuk mencegah inhalasi serbuk kimia. Sarung tangan seharusnya digunakan untuk mencegah kontak dengan kulit. *[Catatan Penggunaan sarung tangan adalah praktek yang baik untuk penanganan berbagai bahan kimia. Jika sarung tangan diperlukan untuk menangani wadah selama penimbangan, operator seharusnya menggunakan sarung tangan, tidak hanya untuk perlindungan diri tapi juga untuk mencegah penimbunan lemak dan minyak pada wadah.]* Selama penimbangan operator mungkin terpapar bahan murni dengan konsentrasi tinggi; oleh karena itu setiap saat operator harus berhati-hati mempertimbangkan kemungkinan tersebut.

Penimbangan dilakukan pada banyak jenis bahan yang berbeda, seperti padatan yang besar, serbuk halus dan cairan (kental atau tidak kental, mudah menguap atau tidak mudah menguap). Tiap jenis bahan memerlukan penanganan khusus.

### Penimbangan Padatan

Padatan dibagi dalam 2 bentuk yaitu potongan besar dengan atau tanpa serbuk pada permukaan dan serbuk halus atau hablur kecil. Jika menimbang potongan besar dengan serbuk pada permukaan, sekurang-kurangnya satu kertas timbang ditempatkan di pan timbangan untuk menjaga dari kerusakan. Potongan besar yang tidak reaktif dengan permukaan tanpa serbuk dapat ditempatkan langsung pada pan (misal tablet salut). *[Catatan Potongan padatan harus ditangani dengan pinset, tidak boleh dengan tangan.]*

### MUATAN STATIS

Serbuk halus memiliki kecenderungan menimbulkan muatan statis yang menyebabkan partikel berterbangan. Muatan statis harus dihilangkan sebelum penimbangan. Gunakan alat antistatis untuk meminimalkan masalah ini. *[Catatan Beberapa alat mungkin menggunakan komponen*

'piezoelectric' atau sejumlah kecil elemen radioaktif (sejenis polonium) untuk menghasilkan aliran ion yang menghilangkan muatan statis serbuk yang ditimbang.] Muatan statis bergantung pada kelembaban relatif laboratorium yang bergantung pada kondisi lingkungan. Dalam kondisi tertentu muatan statis diakibatkan oleh pakaian yang digunakan operator, muatan statis ini menyebabkan kesalahan besar pada saat penimbangan.

#### PROSEDUR PENIMBANGAN

Tempatkan wadah pada pan timbangan, tutup pintu timbangan dan lakukan penimbangan seperti tertera pada *Penimbangan dengan Perbedaan* dengan tambahan sebagai berikut. Tambahkan bahan yang telah diserbukkan menggunakan spatula sampai jumlah yang diinginkan secara hati-hati. Hindari tumpahan. Tutup pintu timbangan dan catat bobot segera saat timbangan menunjukkan pembacaan yang stabil.

#### TUMPAHAN

Jika padatan tumpah, pindahkan wadah dan bersihkan bahan yang tumpah dari timbangan. Bahan yang tumpah harus dibuang dengan tepat dan tidak boleh disingkirkan ke meja timbangan sehingga operator lain mungkin kontak dengan bahan tersebut. Kemudian dapat memulai proses menimbang atau menimbang kembali sisa bahan. [Catatan Jangan pernah mengembalikan kelebihan bahan ke wadah awal. Kelebihan bahan harus dibuang dengan cara yang tepat.]

#### Penimbangan Cairan

Cairan mungkin mudah menguap atau tidak mudah menguap dan kental atau tidak kental. Setiap jenis membutuhkan perhatian khusus.

#### PROSEDUR PENIMBANGAN

Lakukan penimbangan seperti tertera pada *Penimbangan dengan perbedaan* dengan tambahan sebagai berikut: Cairan sebaiknya selalu ditimbang pada wadah yang dapat ditutup sehingga tidak ada bahan yang hilang. Langkah terbaik apabila cairan ditambahkan pada wadah di luar timbangan karena adanya kemungkinan tumpah. [Catatan Cairan yang tumpah pada alat penimbangan dapat menyebabkan kerusakan serius terhadap timbangan dan tumpahan cairan susah dihilangkan.]

Cairan yang tidak kental dapat ditangani dengan pipet kapiler Pasteur yang dilengkapi dengan balon karet seperti pipet tetes. Sejumlah kecil cairan kental dapat ditangani dengan menyentuhkan pengaduk pada permukaan cairan dan dengan hati-hati menyentuhkan pengaduk ke sisi wadah yang akan mengalirkan bahan ke wadah lain.

#### Penimbangan Bahan Korosif

Banyak bahan kimia seperti garam, bersifat korosif, dan jenis bahan ini tidak boleh tumpah pada pan timbangan atau masuk pada alat penimbangan. Penting untuk lebih berhati-hati saat menimbang bahan jenis ini.

#### KESIMPULAN

Dengan mengikuti prosedur diatas secara hati-hati, personil laboratorium akan menghilangkan banyak kesalahan yang mungkin terjadi dalam prosedur penimbangan. Meskipun demikian, penting setiap timbangan dipelihara dan dikalibrasi secara teratur oleh personil terlatih dari pihak internal maupun eksternal. Timbangan harus diuji menggunakan timbangan yang tertelusur ke standar nasional maupun internasional. Perbaikan timbangan harus dilakukan oleh personil yang kompeten.

#### PERTIMBANGAN TENTANG STABILITAS DALAM PEMBERIAN OBAT <1351>

[Catatan Uraian dalam bab ini ditujukan hanya untuk informasi umum, tidak dimaksudkan untuk memodifikasi atau menggantikan persyaratan khusus yang tertera pada Farmakope ini.]

Aspek stabilitas produk obat yang merupakan perhatian utama bagi Apoteker dalam pemberian obat akan dibicarakan di sini.

Apoteker sebaiknya menghindari bahan dan kondisi yang menyebabkan terjadinya penurunan mutu fisik atau peruraian sediaan obat secara kimia. Stabilitas dan efek klinik sediaan obat dapat dipertahankan dengan meniadakan perubahan atau menghindari cara pembuatan yang tidak tepat. Apoteker sebaiknya menetapkan dan mempertahankan kondisi yang dapat memastikan kestabilan obat guna membantu mencegah kegagalan terapi dan respons yang merugikan.

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk untuk bertahan dalam batas yang ditetapkan dan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan, yaitu "shelf life" nya, sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat produk dibuat. Lima jenis stabilitas yang umum dikenal, dapat dilihat pada tabel.

#### Kriteria untuk Tingkat Penerimaan Stabilitas

Jenis stabilitas	Kondisi yang dipertahankan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan obat
Kimia	Tiap zat aktif mempertahankan keutuhan kimia dan potensi yang tertera pada etiket dalam batas yang ditetapkan.
Fisika	Mempertahankan sifat fisika awal, termasuk pemerian, kesesuaian, keseragaman, disolusi dan kemampuan untuk disuspensikan.



Mikrobiologi	Sterilitas atau resistensi terhadap pertumbuhan mikroba dipertahankan sesuai dengan persyaratan yang dinyatakan. Zat antimikroba yang ada mempertahankan efektivitas dalam batas yang ditetapkan.
Terapi	Efek terapi tidak berubah.
Toksikologi	Tidak terjadi peningkatan toksisitas yang bermakna.

### Faktor-faktor yang Mempengaruhi Stabilitas Produk

Tiap bahan di dalam suatu bentuk sediaan, baik yang berkhasiat terapi aktif atau inaktif dapat mempengaruhi stabilitas. Faktor lingkungan utama yang dapat menurunkan stabilitas seperti paparan terhadap suhu yang merugikan, cahaya, oksigen, karbon dioksida dan kelembaban. Demikian juga faktor utama bentuk sediaan yang mempengaruhi stabilitas obat seperti ukuran partikel (terutama dalam emulsi dan suspensi), pH, komposisi sistem pelarut (misalnya persentase air dan kepolaran), kesesuaian antara anion dan kation, kekuatan ion larutan, wadah utama, adanya bahan tambahan kimia spesifik, ikatan molekular, difusi obat dan adanya bahan pengisi. Dalam sediaan obat, reaksi-reaksi berikut biasanya menyebabkan berkurangnya kandungan zat aktif dan perubahan ini biasanya tidak tampak secara visual.

**Hidrolisis Ester dan  $\beta$ -laktam** adalah ikatan kimia yang dapat terhidrolisis dengan adanya air. Sebagai contoh, ester asetil dalam aspirin terhidrolisis menjadi asam asetat dan asam salisilat pada kondisi lembab, tetapi pada kondisi lingkungan kering hidrolisis ini dapat diabaikan. Kecepatan hidrolisis aspirin meningkat dengan meningkatnya tekanan uap air di lingkungan.

Ikatan amida juga terhidrolisis, walaupun pada umumnya lebih lambat dibanding ester. Sebagai contoh, prokain (suatu ester) akan terhidrolisis jika disterilkan dalam autoklaf, tetapi prokainamida tidak. Ikatan amida atau peptida dalam berbagai senyawa peptida dan protein bervariasi dalam kelabilan untuk terhidrolisis.

Ikatan laktam dan azometin (atau imin) dalam benzodiazepin juga labil terhadap hidrolisis. Pemicu atau katalis proses hidrolisis yang utama adalah pH dan zat kimia tertentu (misalnya dekstrosa dan tembaga pada hidrolisis ampisilin).

**Epimerisasi** Golongan tetrasiklin paling mudah mengalami epimerisasi. Reaksi ini terjadi dengan cepat jika obat terlarut diberi suasana pH lebih dari 3 dan menghasilkan penyusunan ulang sterik pada golongan dimetilamino. Epitetrasiklin adalah epimer tetrasiklin, hanya sedikit atau tidak mempunyai aktivitas antibakteri.

**Dekarboksilasi** Beberapa asam karboksilat yang larut seperti asam p-aminosalisilat, kehilangan karbondioksida dari gugus karboksilnya jika dipanaskan. Reaksi ini mengurangi kekuatan farmakologi.

Dekarboksilasi  $\beta$ -keto dapat terjadi pada beberapa antibiotik padat yang mempunyai gugus karbonyl pada  $\beta$ -karbon dari asam karboksilat atau anion karboksilat. Dekarboksilasi semacam ini terjadi pada antibiotik: natrium karbenisilin, asam bebas karbenisilin, natrium tikarsilin dan asam bebas tikarsilin.

**Dehidrasi** Dehidrasi tetrasiklin yang dikatalisasi dengan asam membentuk epianhidrotetrasiklin, suatu produk yang kekurangan aktivitas antibakteri dan menyebabkan toksisitas.

**Oksidasi** Struktur molekul yang mudah teroksidasi adalah yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat langsung pada cincin aromatik (contohnya turunan fenol seperti katekolamin dan morfin), diena terkonjugasi (seperti vitamin A dan asam lemak bebas tak jenuh), cincin aromatik heterosiklik, turunan nitroso dan nitrit, serta aldehid (contohnya perasa). Hasil oksidasi biasanya kekurangan aktivitas terapi. Contoh identifikasi terjadinya oksidasi secara visual adalah perubahan warna epinefrin dari tidak berwarna menjadi kekuningan yang mungkin tidak terlihat pada beberapa pengenceran atau dengan beberapa mata.

Oksidasi dikatalisasi dengan nilai pH yang lebih tinggi dari nilai pH optimum, ion logam berat polivalen (contohnya besi dan tembaga) dan paparan terhadap oksigen dan cahaya UV. Dua terakhir penyebab oksidasi membenarkan penggunaan zat kimia antioksidan, gas nitrogen yang dialirkan pada saat pengisian ampul dan vial atau wadah /pengemas yang tidak tembus cahaya dan gelas bening coklat atau wadah plastik.

**Dekomposisi fotokimia** Paparan cahaya UV dapat menyebabkan oksidasi (fotooksidasi) dan fotolisis pada ikatan kovalen. Nifedipin, nitroprussida, riboflavin dan fenotiazin sangat labil terhadap fotooksidasi. Pada senyawa yang rentan, energi fotokimia menghasilkan radikal bebas antara yang dapat mengekalkan reaksi berantai.

**Kekuatan ion** Efek konsentrasi total dari elektrolit terlarut terhadap kecepatan reaksi hidrolisis berasal dari pengaruh kekuatan ion pada daya tarik antar ion. Pada umumnya kecepatan hidrolisis yang konstan merupakan perbandingan kekuatan ion dengan ion yang berlawanan muatan (contohnya, kation obat dan anion pengisi) dan secara langsung sebanding dengan kekuatan ion. Reaksi yang menghasilkan ion yang bermuatan berlawanan dengan obat aslinya karena peningkatan kekuatan ion, dapat meningkatkan kecepatan hidrolisis. Kekuatan ion garam organik yang tinggi dapat juga mengurangi kelarutan beberapa obat lainnya.

**Efek pH** Degradasi banyak obat dalam larutan meningkat atau menurun secara eksponensial ketika pH menurun atau meningkat melampaui rentang nilai pH spesifik. Tingkat pH yang tidak tepat dengan terkena kenaikan suhu merupakan faktor yang banyak menyebabkan obat kehilangan efek klinik yang

bermakna, disebabkan oleh reaksi hidrolisis dan oksidasi. Sebagai contoh, larutan atau suspensi obat, mungkin stabil selama beberapa hari, minggu, bahkan tahun dalam bentuk formulasi aslinya, tetapi jika dicampur dengan cairan lain yang mengubah pH, akan terdegradasi dalam beberapa menit atau hari. Dengan perubahan pH walaupun hanya 1 unit (misalnya dari 4 menjadi 3 atau dari 8 menjadi 9) dapat menurunkan stabilitas obat dengan faktor 10 atau lebih.

Suatu sistem dapar pH, biasanya asam atau basa lemah dan garamnya, merupakan bahan pengisi yang biasa digunakan dalam sediaan cairan untuk mempertahankan pH pada suatu rentang yang akan meminimalkan kecepatan degradasi obat. pH larutan obat dapat juga diatur atau didapar untuk mencapai kelarutan obat. Sebagai contoh, pH yang berkaitan dengan pKa akan mengontrol fraksi terionisasi yang biasanya lebih larut dan jenis non ionik yang kurang larut dari suatu senyawa organik yang bersifat elektrolit lemah.

Pengaruh pH pada stabilitas fisik sistem dua fase, terutama emulsi, juga penting. Sebagai contoh, emulsi lemak intravena yang stabil dengan adanya pH asam.

**Kompatibilitas (ketercampuran) antar ion ( $\text{Ion}^{\text{N}^+}$ - $\text{Ion}^{\text{N}^-}$ )** Kompatibilitas atau kelarutan ion-ion berlawanan muatan terutama tergantung pada jumlah muatan per ion dan ukuran molekul ion. Pada umumnya ion polivalen yang berlawanan muatan akan menjadi lebih tidak tercampur. Jadi suatu ketidaktercampuran lebih mudah terjadi pada penambahan ion yang banyak dengan muatan yang berlawanan dengan obat.

**Kestabilan keadaan padat** Reaksi-reaksi relatif lambat pada keadaan padat. Jadi, stabilitas obat pada keadaan padat jarang diperhatikan pada pembuatan obat. Kecepatan degradasi zat padat kering biasanya ditunjukkan dengan kurva kinetik ordo 1 atau kurva sigmoid. Oleh karena itu, obat-obat padat dengan suhu lebur lebih rendah sebaiknya tidak dikombinasi dengan senyawa kimia lain yang dapat membentuk campuran eutektik.

Pada keadaan lembab, dekomposisi obat padat dapat mengubah kinetik kimia orde 0 karena kecepatan dikontrol oleh fraksi obat yang relatif kecil yang ada dalam suatu larutan jenuh, berada pada permukaan produk ruahan obat padat (biasanya tidak kelihatan).

**Suhu** Pada umumnya kecepatan reaksi kimia akan meningkat secara eksponensial pada setiap kenaikan suhu  $10^\circ$ . Hubungan ini dapat diamati pada hampir semua reaksi hidrolisis obat dan beberapa reaksi oksidasi obat. Faktor aktual dari peningkatan kecepatan tergantung pada energi aktivasi dari reaksi tertentu. Energi aktivasi adalah suatu fungsi dari ikatan reaktif spesifik dan formulasi obat (misalnya pelarut, pH, bahan tambahan). Sebagai contoh, obat dapat terhidrolisis jika mengalami peningkatan suhu  $20^\circ$ , seperti dari dingin menjadi suhu ruang yang terkontrol (*Lihat Persyaratan dan Ketentuan Umum*). "*Shelf life*" obat pada suhu ruang terkontrol menurun  $\frac{1}{4}$  sampai  $\frac{1}{25}$  dari "*shelf life*" nya pada

keadaan suhu lemari pendingin.

Apoteker harus waspada bahwa suhu dingin yang tidak tepat dapat menimbulkan kerusakan. Sebagai contoh, lemari pendingin dapat menyebabkan viskositas yang ekstrim pada beberapa obat cair dan menyebabkan super saturasi pada yang lain. Pembekuan dapat memecah atau menyebabkan peningkatan ukuran tetesan suatu emulsi; juga dapat mendenaturasi protein; dan dalam kasus yang jarang terjadi dapat menyebabkan terbentuknya keadaan polimorfis yang kurang larut pada beberapa obat.

### Penelitian Stabilitas dalam Pembuatan Obat

Cakupan dan rancangan penelitian stabilitas bervariasi tergantung pada produk dan pabrik yang bersangkutan. Umumnya formulator suatu produk pertama-tama menentukan pengaruh suhu, cahaya, udara, pH, kelembaban, sesepora logam dan bahan pengisi atau pelarut yang biasa digunakan pada zat aktif. Dari informasi ini, satu atau lebih formula suatu sediaan dibuat, dikemas dalam wadah yang sesuai dan disimpan dalam berbagai kondisi lingkungan yang berbeda, baik normal maupun tidak. Pada interval waktu tertentu, produk contoh ditetapkan potensinya menggunakan metode yang menunjukkan stabilitas, mengamati perubahan fisik jika memungkinkan, diuji sterilitas dan atau resistensi terhadap pertumbuhan mikroba serta toksisitas dan ketersediaan hayati. Penelitian seperti ini digabung dengan hasil uji klinik dan toksikologi, memungkinkan pabrik untuk memilih formulasi dan wadah yang optimum serta menetapkan kondisi penyimpanan yang dianjurkan dan tanggal kedaluwarsa untuk tiap bentuk sediaan dalam kemasannya.

### Tanggung Jawab Apoteker

Apoteker membantu menjamin bahwa obat di bawah pengawasannya memenuhi kriteria stabilitas yang dapat diterima dengan: (1) Menyerahkan lebih dahulu obat yang paling lama disimpan dan memperhatikan waktu kedaluwarsa obat; (2) Menyimpan obat pada kondisi lingkungan seperti tertera pada masing-masing monografi dan atau pada etiket; (3) Mengamati produk terhadap terjadinya ketidakstabilan; (4) Membuat dan memberi etiket dengan benar pada produk yang dikemas kembali, diencerkan atau dicampur dengan produk lain; (5) Memberikan obat dalam wadah yang sesuai dengan tutup yang sesuai; (6) memberikan informasi dan pengetahuan pada pasien tentang cara penyimpanan dan pemakaian obat yang benar termasuk pengaturan resep yang sudah lama.

**Perputaran persediaan dan pengamatan tanggal kedaluwarsa** Perputaran persediaan yang benar diperlukan untuk meyakinkan pemberian obat yang sesuai. Obat yang jarang diberikan harus dimonitor dengan ketat sehingga obat yang telah disimpan lama perlu mendapat perhatian khusus, terutama berkaitan dengan tanggal kedaluwarsa. Pabrik dapat menjamin mutu obat hanya sampai pada tanggal kedaluwarsa yang

ditentukan bila obat disimpan dalam wadah asli pada kondisi penyimpanan yang dianjurkan.

**Penyimpanan pada kondisi lingkungan yang dianjurkan** Umumnya kondisi penyimpanan yang dianjurkan tertera pada etiket, yang harus diikuti dengan saksama. Termasuk rentang suhu atau kondisi tempat penyimpanan tertentu (misalnya lemari pendingin atau suhu ruang dengan suhu terkendali) seperti tertera pada *Ketentuan Umum*. Instruksi tambahan seperti cara melindungi produk dari cahaya juga harus diikuti dengan saksama. Bila suatu produk harus terlindung dari cahaya dan ditempatkan dalam wadah yang jernih dan tembus cahaya dengan penutup bagian luar buram, penutup tersebut tidak boleh dibuka atau dibuang hingga semua isinya digunakan. Jika tidak ada instruksi khusus, produk harus disimpan dalam suhu ruang yang terkendali seperti tertera pada *Suhu Penyimpanan* dalam *Ketentuan Umum*. Produk harus disimpan jauh dari lokasi yang dapat menimbulkan panas, dingin berlebih atau bervariasi, atau cahaya yang kuat, seperti dekat dengan pipa pemanas atau cahaya fluoresens.

**Mengamati produk terhadap terjadinya ketidakstabilan** Hilangnya potensi biasanya disebabkan oleh perubahan kimia; reaksi yang paling umum adalah hidrolisis, oksidasi-reduksi dan fotolisis. Perubahan kimia juga dapat terjadi melalui interaksi antara bahan-bahan dalam suatu produk atau jarang antara produk dengan wadah. Hilangnya potensi zat aktif dapat diakibatkan oleh difusi obat ke dalam atau kombinasinya dengan, permukaan sistem penutupan wadah. Bertambahnya potensi umumnya disebabkan oleh penguapan pelarut atau perembesan bahan-bahan dari sistem penutupan wadah.

Potensi kimia zat aktif harus tetap berada dalam batas yang tertera dalam monografi. Potensi ditetapkan menggunakan prosedur penetapan kadar yang dapat membedakan molekul utuh dan hasil urainya. Data stabilitas kimia harus disediakan oleh pabrik. Walaupun degradasi kimia umumnya tidak dapat dideteksi oleh Apoteker, degradasi kimia berlebihan kadang-kadang disertai dengan perubahan fisika yang dapat diamati. Selain itu, beberapa perubahan fisika tidak harus berkaitan dengan potensi kimia, seperti perubahan warna dan bau atau terbentuknya endapan atau timbulnya kekeruhan larutan, dapat merupakan petunjuk bagi Apoteker terhadap kemungkinan masalah stabilitas. Harus diasumsikan bahwa produk yang mengalami perubahan fisik yang tidak tertera pada etiket mungkin juga mengalami perubahan kimia, dan produk seperti itu jangan diserahkan. Pertumbuhan mikroba yang berlebihan dan atau kontaminasi juga dapat terjadi seperti halnya perubahan fisik. Perubahan besar dalam karakteristik fisik seperti warna atau bau adalah tanda ketidakstabilan setiap produk apapun. Tanda fisik lain yang umum dari kerusakan sediaan diuraikan di bawah ini.

**SEDIAAN PADAT** Banyak sediaan padat dibuat untuk disimpan pada kondisi kelembaban rendah. Sediaan seperti ini memerlukan perlindungan terhadap air dari lingkungannya, karena itu harus disimpan dalam wadah tertutup rapat seperti tertera pada *Wadah* dalam *Ketentuan Umum* atau dalam wadah yang disediakan oleh pabrik. Timbulnya kabut atau tetesan cairan atau penggumpalan produk di dalam wadah menunjukkan kondisi yang tidak benar. Adanya zat pengering di dalam wadah dari pabrik menandakan perlunya perhatian khusus dalam pemberian obat. Beberapa hasil urai, misalnya asam salisilat dari aspirin dapat menyublim dan membentuk hablur pada bagian luar sediaan atau pada dinding wadah.

*Kapsul gelatin keras dan lunak* Oleh karena formulasi kapsul diisi ke dalam cangkang kapsul gelatin, perubahan besar dalam penampilan fisik atau konsistensi, termasuk pengerasan atau pelunakan cangkang merupakan tanda utama dari ketidakstabilan. Bukti adanya pelepasan gas seperti menggelembungnya petutup kertas adalah tanda lain dari ketidakstabilan.

*Tablet tidak bersalut* Ketidakstabilan fisik pada tablet tidak bersalut ditunjukkan oleh serbuk berlebih dan atau kepingan tablet (yaitu kerusakan oleh rapuhnya) tablet pada dasar wadah (berasal dari tablet yang terkelupas, pecah atau hancur); retak atau sumbing pada permukaan tablet, mengembang, berbintik-bintik, berubah warna, tablet saling berlekatan atau timbulnya hablur yang bukan bagian dari tablet pada dinding wadah atau pada tablet.

*Tablet bersalut* Ketidakstabilan fisik pada tablet bersalut ditunjukkan oleh retak, berbintik-bintik atau kusamnya penyalut dan menggumpalnya tablet.

*Serbuk kering dan granul* Serbuk kering dan granul yang tidak ditujukan untuk dikonstitusikan dalam bentuk cair, di dalam wadah aslinya dapat membentuk massa yang keras atau berubah warna dan dapat mengakibatkan sediaan tidak dapat diterima.

*Serbuk dan granul yang dimaksudkan untuk dikonstitusikan dalam Larutan atau Suspensi* Serbuk kering atau granul yang ditujukan untuk dikonstitusikan dalam larutan atau suspensi memerlukan perhatian khusus. Umumnya bentuk seperti ini adalah antibiotik atau vitamin yang sangat peka terhadap lembab. Karena selalu diberikan dalam wadah aslinya, umumnya tidak terkontaminasi oleh lembab. Tetapi timbulnya penggumpalan yang tidak umum memerlukan evaluasi hati-hati, dan timbulnya kabut atau tetesan cairan dalam wadah membuat sediaan tidak baik untuk digunakan. Adanya bau tidak enak juga merupakan petunjuk ketidakstabilan.

*Tablet efervesen, granul dan serbuk* Produk efervesen sangat peka terhadap lembab. Pembengkakan massa atau bertambahnya tekanan gas yang merupakan tanda khas dari ketidakstabilan, menunjukkan bahwa kerja beberapa efervesen telah terjadi lebih cepat.

**SEDIAAN CAIR** Yang menjadi perhatian utama berkaitan dengan bentuk sediaan cair adalah

homogenitas dan bebas dari kontaminasi dan pertumbuhan mikroba berlebih. Ketidakstabilan dapat ditunjukkan oleh kekeruhan atau endapan dalam larutan, pecahnya emulsi, gumpalan dalam suspensi yang tidak dapat disuspensikan kembali atau perubahan organoleptik. Pertumbuhan mikroba dapat disertai dengan perubahan warna, kekeruhan atau pembentukan gas.

*Larutan, eliksir dan sirup* Endapan dan adanya mikroba atau pembentukan gas kimia merupakan dua tanda utama ketidakstabilan.

*Emulsi* Pecahnya emulsi, yaitu terpisahnya fase minyak yang tidak mudah terdispersi, merupakan tanda karakteristik ketidakstabilan, tetapi jangan keliru dengan pembentukan krim yang merupakan pemisahan dari fase minyak yang mudah didispersikah kembali dan merupakan peristiwa yang umum pada emulsi yang stabil.

*Suspensi* Gumpalan fase padat yang tidak dapat disuspensikan kembali dengan pengocokan biasa adalah petunjuk utama ketidakstabilan dalam suspensi. Timbulnya partikel yang cukup besar dapat diartikan telah terjadi pembentukan hablur yang berlebih.

*Tingtur dan ekstrak cair* Tingtur, ekstrak cair dan sediaan sejenis umumnya berwarna gelap karena pekat dan harus diperiksa dengan cermat terhadap timbulnya endapan.

*Cairan steril* Mempertahankan sterilitas cairan steril adalah sangat penting. Timbulnya kontaminasi mikroba dalam cairan steril umumnya tidak dapat dideteksi secara visual, tetapi setiap perubahan warna, kekeruhan, selaput pada permukaan, bahan partikulat atau flokulan atau pembentukan gas yang samar merupakan alasan yang cukup untuk mencurigai adanya kontaminasi. Kejernihan larutan steril yang ditujukan untuk penggunaan optalmik atau parenteral adalah hal yang sangat penting. Kerusakan segel yang utuh pada produk harus dicurigai.

**SEMISOLIDA (KRIM, SALEP DAN SUPOSITORIA)** Untuk krim, salep dan supositoria, petunjuk utama ketidakstabilan yang sering ditemukan adalah perubahan warna atau perubahan dalam konsistensi atau bau.

*Krim* Berbeda dengan salep, krim biasanya adalah emulsi yang mengandung air dan minyak. Petunjuk ketidakstabilan dalam krim adalah pecahnya emulsi, pembentukan hablur, penciutan karena penguapan air dan kontaminasi mikroba yang besar.

*Salep* Tanda umum dari ketidakstabilan dalam salep adalah perubahan dalam konsistensi dan pemisahan sejumlah besar cairan dan pembentukan granul atau butiran kecil.

*Suppositoria* Pelunakan berlebihan adalah petunjuk utama ketidakstabilan suppositoria, walaupun beberapa suppositoria dapat mengering dan mengeras atau mengerut. Adanya bercak minyak pada bahan pengemas merupakan peringatan bagi Apoteker untuk memeriksa masing-masing suppositoria lebih ketat dengan membuka setiap pengemas bila diperlukan. Sebagai aturan umum (walaupun ada pengecualian), suppositoria harus

disimpan dalam lemari pendingin (seperti tertera pada *Suhu Penyimpanan* dalam *Ketentuan Umum*).

**Perlakuan yang benar dari produk yang mendapatkan penanganan tambahan** Dalam pengemasan kembali, pengenceran atau pencampuran suatu produk dengan produk yang lain, Apoteker harus dapat bertanggungjawab untuk kestabilan produk ini.

**PENGEMASAN KEMBALI** Pada umumnya, pengeemasan kembali tidak dianjurkan. Tetapi jika pengeemasan kembali diperlukan, pabrik sebaiknya dihubungi berkaitan dengan masalah-masalah yang mungkin terjadi. Dalam membuat obat menurut resep dokter, penting untuk menggunakan wadah yang sesuai. Kondisi penyimpanan yang tepat dan jika memungkinkan tanggal kedaluwarsa sebaiknya tertera pada etiket wadah. Wadah kemasan tunggal memerlukan perhatian, pertimbangan dan pengawasan ketat mengenai pedoman berikut ini: (1) Gunakan bahan pengemas yang sesuai; (2) Jika data Stabilitas pada kemasan baru tidak ada, kemas kembali pada waktu tertentu hanya untuk persediaan secukupnya untuk waktu yang terbatas; (3) Cantumkan pada etiket dosis tunggal, nomor bets dan tanggal kedaluwarsa yang sesuai; (4) Bila produk steril dikemas kembali dari vial dosis ganda ke dalam alat suntik dosis tunggal (disposibel), sisanya harus dibuang jika tidak digunakan dalam 24 jam, kecuali jika terdapat data yang menunjukkan untuk penyimpanan lebih lama; (5) Jika sejumlah produk dikemas terlebih dahulu untuk penggunaan segera, simpan catatan pengeemasan kembali yang menunjukkan nama pabrik, nomor bets, tanggal dan identitas orang yang bertanggung jawab terhadap pengeemasan kembali dan pemeriksaan kembali; (6) Jika diperlukan penutupan yang aman, gunakan sistem penutup wadah yang dipastikan dapat memenuhi aturan baku yang resmi untuk penyimpanan.

**PENGECERAN ATAU PENCAMPURAN** Jika suatu produk diencerkan atau jika dua produk dicampur, Apoteker sebaiknya mematuhi prosedur profesional dan ilmiah. Sebagai contoh: tingtur seperti belladon dan tingtur digitalis mengandung etanol kadar tinggi untuk melarutkan zat aktifnya, dapat membentuk endapan jika diencerkan atau dicampur dengan sistem yang mengandung air. Literatur teknis yang berkaitan dan pengetiketan sebaiknya didiskusikan secara rutin, dan sebaiknya menggunakan literatur mutakhir karena sewaktu-waktu formula dapat diganti oleh pabrik. Jika kombinasi khusus digunakan secara umum, dianjurkan untuk konsultasi dengan pabrik. Karena stabilitas kimia campuran yang dibuat segar tidak diketahui, penggunaan kombinasi seperti ini tidak dianjurkan; jika campuran tersebut mempunyai masalah inkompatibilitas, Apoteker harus bertanggung jawab. Sediaan antibiotik oral yang dibuat dari serbuk menjadi bentuk cairan tidak boleh dicampur dengan produk lainnya.

Kombinasi produk parenteral memerlukan penanganan khusus, terutama untuk larutan intravena, karena cara pemberiannya. Tempat pembuatan

memerlukan perhatian besar, teknik aseptik, pertimbangan dan ketekunan. Karena masalah yang mungkin tidak terlihat terjadi berkaitan dengan sterilitas dan stabilitas kimia, semua sediaan parenteral sebaiknya digunakan dalam waktu 24 jam kecuali terdapat data yang dapat menunjang penyimpanan yang lebih lama.

**Informasi dan pengetahuan pada pasien** Sebagai langkah akhir dalam memenuhi tanggung jawab terhadap kestabilan obat yang diberikan, Apoteker berkewajiban memberi informasi kepada pasien mengenai kondisi penyimpanan yang benar (Contoh: dalam tempat yang dingin dan kering, bukan dalam kamar mandi), baik untuk obat dengan resep atau tanpa resep dokter dan memberikan perkiraan waktu kapan obat harus dibuang. Jika terdapat tanggal kedaluwarsa, Apoteker harus menekankan pada pasien bahwa tanggal ini hanya berlaku jika disimpan dengan cara yang benar. Pasien dianjurkan untuk membersihkan lemari penyimpanan obatnya secara berkala.

## **PRAKTEK LABORATORIUM MIKROBIOLOGI YANG BAIK <1352>**

### **PENDAHULUAN**

Praktek laboratorium yang baik pada laboratorium mikrobiologi terdiri dari aktivitas yang bergantung pada beberapa prinsip yaitu teknik aseptik, kontrol media, kontrol galur uji, kontrol peralatan, pencatatan dan evaluasi data yang teratur dan pelatihan staf laboratorium. Karena variabilitas data mikrobiologi, reliabilitas dan reproduktibilitas bergantung pada penggunaan metode yang diterima dan kepatuhan terhadap praktek laboratorium yang baik.

### **PERSIAPAN DAN KONTROL KUALITAS MEDIA**

#### **Persiapan Media**

Media kultur adalah dasar untuk sebagian besar uji mikrobiologi. Oleh karena itu, pemeliharaan kualitas media merupakan faktor penting untuk keberhasilan laboratorium mikrobiologi. Persiapan media, penyimpanan yang benar, dan uji kontrol kualitas dapat menjamin konsistensi persediaan dari media berkualitas tinggi.

Hal ini penting untuk pemilihan media yang benar atau komponen dalam pembuatan media, berdasarkan pada sumber atau referensi yang dapat diterima untuk formula. Formula dan petunjuk persiapan media dari produsen, secara rutin menyertai media kering dan media siap pakai. Karena perbedaan jenis media mungkin terdapat perbedaan persyaratan persiapan (misal pemanasan, zat tambahan, dan pengukuran pH), petunjuk ini penting diikuti untuk menjamin persiapan kualitas media yang dapat diterima. Sertifikat analisis yang menerangkan batas tanggal kedaluwarsa dan merekomendasikan kondisi penyimpanan, menyertai media siap pakai seperti halnya

kontrol kualitas organisme yang digunakan dalam uji fertilitas dan selektivitas media.

Air adalah pelarut umum untuk media mikrobiologi. Air murni sering digunakan, untuk persiapan media, tetapi dalam kasus tertentu mungkin cukup menggunakan air deionisasi atau air destilasi. Volume air yang digunakan hendaknya dicatat.

Persiapan media yang konsisten memerlukan penimbangan yang akurat dari media kering atau unsur utama media. Untuk ramuan media hendaknya digunakan timbangan yang dikalibrasi dengan rentang penimbangan berat yang sesuai. Hendaknya digunakan wadah penimbangan dan peralatan yang bersih (contoh spatula) untuk mencegah bahan asing yang mungkin mengubah komposisi akhir media dari ramuan awal. Berat komponen hendaknya dicatat.

Media kering hendaknya dilarutkan dalam air sebelum dibagikan dan sterilisasi. Jika pemanasan dibutuhkan untuk membantu melarutkan media, hendaknya diperhatikan untuk tidak terlalu panas pada semua media kultur, pemanasan tidak terlalu lama atau terlalu singkat untuk media yang sensitif terhadap panas. Perlengkapan yang digunakan untuk persiapan media hendaknya sesuai dan memungkinkan untuk pengontrolan panas, pengocokan yang konstan dan pencampuran media. Penghitaman warna media (Reaksi tipe Milliard atau pencokelatan non enzimatik) menunjukkan indikasi umum pemanasan yang berlebih bila diperlukan penambahan suplemen ke dalam media, maka setelah penambahan suplemen hendaknya dilakukan pencampuran yang memadai.

Persiapan media dalam alat gelas yang kurang dapat menyebabkan masuknya zat penghambat ke dalam media. Zat penghambat dapat berasal dari residu deterjen saat alat gelas dibersihkan atau dari bahan yang digunakan dalam alat gelas tersebut sebelumnya. Pastikan bahwa proses pembersihan alat gelas telah menghilangkan pengotor dan bahan asing dan kemudian deterjen yang digunakan dibilas dengan air destilasi Lihat *Pencucian Peralatan Kaca* sebagai petunjuk tambahan.

Sterilisasi media hendaknya dilakukan dengan parameter yang disediakan oleh produsen atau divalidasi oleh pengguna. Media siap-pakai komersial hendaknya menyediakan dokumentasi metode sterilisasi yang digunakan. Idealnya produsen menyediakan *Jaminan Tingkat Sterilitas (JTS)* dari media, terhadap indikator biologi yang diakui. Penggunaan otoklaf dengan pemanasan basah merupakan teknik sterilisasi yang lebih dipilih, kecuali misal jika diperlukan pendidihan, untuk menghindari kerusakan komponen media yang tidak tahan panas. Sterilisasi dengan penyaringan mungkin juga lebih sesuai untuk beberapa formula.

Efek metode sterilisasi dan kondisi media hendaknya divalidasi dengan uji sterilitas dan uji fertilitas media. Sebagai tambahan, jika sterilisasi dengan panas basah, kinerja otoklaf hendaknya divalidasi untuk menjamin ketepatan distribusi panas untuk beban atau volume yang dipilih. Secara khusus produsen merekomendasikan penggunaan kinerja otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit menggunakan otoklaf yang tervalidasi. Kondisi

ini diterapkan untuk waktu dan suhu media. Selama susunan beban dalam otoklaf akan mempengaruhi kecepatan pemanasan, maka diperlukan kinerja yang lebih lama untuk beban yang lebih besar.

Meskipun demikian waktu untuk sterilisasi akan tergantung pada volume media dan beban otoklaf. Kinerja sterilisasi otoklaf yang lambat untuk meningkatkan suhu mungkin akan menghasilkan pemanasan yang berlebih untuk media. Oleh karena itu validasi kinerja sterilisasi harus diperhatikan untuk memberi JTS minimal yang dipersyaratkan, keseimbangan kebutuhan media steril terhadap kecenderungan media mengalami degradasi di bawah kondisi pemanasan yang berlebihan. Penyimpanan media dalam otoklaf setelah siklus pencairan lengkap tidak direkomendasikan setelah pendinginan, karena akan merusak media. Pemanasan atau kondisi sterilisasi yang tidak cukup akan menghasilkan perbedaan perubahan warna, kurang jernih, perubahan kepadatan atau penyimpangan dari pH rentang yang direkomendasikan oleh produsen.

pH tiap betas media hendaknya di konfirmasi setelah didinginkan pada suhu ruangan ( $25^{\circ}$ ) dengan mengambil sebagian sampel secara aseptik untuk pengujian. "Probe" pH yang datar direkomendasikan untuk permukaan agar dan "probe" yang dicelup direkomendasikan untuk cairan. pH media hendaknya dalam kisaran  $\pm 0,2$  dari nilai yang ditunjukkan oleh produsen, kecuali rentang yang lebar dapat diterima oleh metode validasi.

Media yang telah disiapkan hendaknya diperiksa dengan mengamati lempeng dan tabung media terhadap:

- Keretakan wadah atau tutup
- Pengisian wadah yang tidak mencukupi
- Dehidrasi yang mengakibatkan retak atau cekungan pada permukaan media padat
- Hemolisis
- Penghitaman yang berlebihan atau perubahan warna
- Pembentukan kristal dan kemungkinan pembekuan
- Gelembung dengan jumlah yang berlebihan
- Kontaminasi mikroba
- Status indikator redoks (jika diperlukan)
- Pemeriksaan dan pencatatan nomor betas dan tanggal kedaluarsa.
- Sterilitas media

### Penyimpanan Media

Perlu diperhitungkan dengan bijaksana bagaimana produsen atau supplier memindahkan dan menyimpan media sebelum didistribusi sampai ke pengguna akhir. Produsen media hendaknya menggunakan kondisi transportasi dan penyimpanan yang dapat meminimalkan penurunan kelembaban, kontrol suhu, dan menyediakan perlindungan mekanik hingga persiapan media.

Media hendaknya diberi label dengan betas atau nomer lot, persiapan, dan tanggal kedaluarsa dan identifikasi media. Media hendaknya disimpan sesuai instruksi produsen. Media buatan sendiri hendaknya disimpan di bawah kondisi yang tervalidasi. Jangan menyimpan media agar pada atau suhu di bawah  $0^{\circ}$  karena

pembekuan dapat merusak struktur gel. Lindungi penyimpanan media dari paparan cahaya dan suhu yang berlebihan. Sebelum disimpan lama, lempeng agar hendaknya ditempatkan dalam bungkus atau wadah yang dapat mencegah menurunnya kelembaban.

Pelelehan kembali media padat dari wadah asli hanya boleh dilakukan sekali untuk menghindari penurunan kualitas media akibat pemanasan berlebihan atau mudah terkontaminasi. Pelelehan media direkomendasikan dilakukan dalam penangas air atau aliran uap air. Penggunaan oven "microwave" dan lempeng pemanas adalah umum, tapi hendaknya berhati-hati untuk menghindari kerusakan media karena terlalu panas dan untuk menghindari kemungkinan melukai personil laboratorium akibat pecahan gelas dan terbakar. Media agar cair dapat disimpan dalam penangas air yang termonitor pada suhu  $45^{\circ}$  -  $50^{\circ}\text{C}$  tidak lebih dari 8 jam. Hendaknya diperhatikan, saat menuangkan media dari wadah yang terendam dalam tangas air, untuk mencegah tetesan air ke dalam media steril. Dianjurkan mengeringkan bagian luar wadah sebelum menuangkan media.

Pembuangan media kultur yang digunakan (misal media kedaluarsa) hendaknya mengikuti prosedur keselamatan biohazard setempat.

### Uji Kontrol Kualitas

Sementara media pertumbuhan dapat dipersiapkan di laboratorium dari masing-masing komponennya, banyak laboratorium, untuk kemudahan penggunaan, menggunakan media kering atau media jadi dalam bentuk lempeng atau wadah dari gelas. Produsen media berusaha menstandarisasi bahan baku dari sumber biologi, tapi terus menangani dengan konstan perbedaan yang tidak dapat dihindari terhadap bahan baku yang berasal dari sumber alam, oleh karena itu variabilitas media dari lot ke lot, harus dipertimbangkan. Kinerja media yang disiapkan laboratorium atau oleh produsen sangat bergantung pada persiapannya. Media yang disiapkan secara tidak sesuai, dapat menyebabkan kondisi pertumbuhan atau rekoveri mikroba yang tidak memuaskan dan hasil yang tidak sesuai kenyataan.

Uji kontrol kualitas harus dilakukan pada semua media yang disiapkan. Uji dilakukan secara teratur, untuk media yang dibuat sendiri adalah pH, uji fertilitas dan uji stabilitas secara periodik untuk menetapkan tanggal kedaluarsa.

Bila media mikrobiologi buatan sendiri sudah dipersiapkan dan disterilkan dengan baik menggunakan metode tervalidasi, uji fertilitas mungkin dibatasi untuk tiap lot media kering berikutnya, kecuali jika diinstruksikan lain oleh metode kompendial yang relevan. Jika persiapan media tidak divalidasi, maka setiap betas media harus dilakukan uji fertilitas. Mikroba uji mungkin dapat dipilih dari bab uji kompendial yang tepat berdasarkan rekomendasi produsen media khusus atau mungkin termasuk isolat mikroba yang mewakili lingkungan.

Tanggal kedaluarsa pada media hendaknya mendukung uji fertilitas menunjukkan bahwa kinerja media masih memenuhi kriteria penerimaan sampai dengan tanggal kedaluarsa. Panjangnya waktu paruh dari betas media akan bergantung pada stabilitas komposisi dan formulasi di bawah kondisi khusus yang ditetapkan misalnya jenis wadah dan penutupan.

Ketika betas media tidak memenuhi persyaratan uji fertilitas, hendaknya mulai diinvestigasi untuk mengidentifikasi penyebabnya. Investigasi termasuk rencana tindakan perbaikan untuk mencegah masalah terulang kembali. Setiap lot yang tidak sesuai hendaknya tidak digunakan jika penyebab pengalihan atau resolusi perbaikan relatif menunjang tidak adanya pertumbuhan, tidak dapat ditentukan.

Beberapa pereaksi yang digunakan untuk tujuan diagnostik dapat untuk membantu mendukung identifikasi mikroba, misalnya pewarna Gram dan pereaksi uji oksidase. Pereaksi tersebut mungkin memiliki sifat yang dapat diuji dengan pengendalian kualitas mirip dengan media mikrobiologi. Pilih mikroorganisme baku dengan kontrol kualitas yang benar, mengikuti petunjuk produsen dan lakukan uji pendahuluan terhadap uji diagnostik untuk sampel yang tidak diketahui.

Hendaknya ada perhatian khusus pada media yang digunakan dalam studi monitoring lingkungan. Media yang digunakan untuk monitoring lingkungan area kritis hendaknya dibungkus secara rangkap dan kemudian disterilisasi. Jika sterilisasi akhir tidak dilakukan, maka media harus di pre-inkubasi dan 100 % diperiksa sebelum digunakan dalam area kritis. Hal ini akan mencegah kontaminasi dari luar yang dibawa ke dalam lingkungan yang terkendali dan akan mencegah hasil positif palsu. Penambahan ketebalan agar untuk lempeng kontak permukaan hendaknya diverifikasi.

#### PEMELIHARAAN BIAKAN MIKROBIOLOGI

Spesimen biologi dapat menjadi standar yang paling sulit untuk ditangani karena kelangsungan hidup dan karakteristiknya bergantung pada penanganan dan penyimpanan yang sesuai. Standardisasi penanganan dan penyimpanan kultur oleh laboratorium pengguna harus dilakukan untuk meminimalkan peluang kontaminasi atau perubahan karakteristik pertumbuhan. Perlakuan yang hati-hati dan konsisten pada biakan persediaan ("*stock culture*") adalah faktor kritis penting untuk konsistensi hasil uji mikrobiologi. Biakan untuk pengujian kompendial hendaknya berasal dari koleksi biakan nasional. Biakan dapat diperoleh dalam bentuk beku, beku kering, agar miring, atau bentuk siap-pakai. Konfirmasi kemurnian dan identitas biakan hendaknya sudah dilakukan sebelum digunakan dalam pengujian kontrol kualitas. Kultur siap-pakai mungkin memerlukan konfirmasi kemurnian, identitas dan konsentrasi inokulum. Konfirmasi identitas galur mikroba yang biasa digunakan di laboratorium, hendaknya dilakukan pada tingkat analisis genotip (sebagai contoh "*fingerprint*'

DNA, sekuensing gen 16S rRNA, atau analisis PCR menggunakan probe tervalidasi yang sesuai).

Persiapan dan resusitasi biakan seharusnya mengikuti petunjuk pemasok atau metode yang dibuat dan telah divalidasi. Teknik Lot Benih direkomendasikan untuk penyimpanan biakan persediaan. Sampel asli dari koleksi biakan nasional ditumbuhkan kembali pada media yang sesuai. Biakan persediaan dari pemindahan atau *pasase* pertama disuspensikan dalam media '*cryoprotective*', kemudian dialokasikan ke dalam vial-vial, dan dibekukan pada  $-30^{\circ}$  atau lebih rendah sampai digunakan. Jika di simpan pada suhu  $-70^{\circ}$  atau dalam bentuk beku kering, galur mikroba mungkin dapat disimpan pada waktu yang tidak terbatas. Persediaan beku ini kemudian dapat digunakan untuk inokulasi bulanan atau mingguan dan pembuatan biakan kerja ("*working culture*"). Sekali biakan persediaan beku dibuka, suspensi sel yang tidak digunakan setelah pembiakan suspensi kerja, jangan dibekukan kembali. Bagian yang tidak terpakai harus dibuang untuk meminimalkan resiko penurunan viabilitas dan kontaminasi persediaan.

Jumlah pemindahan biakan kerja kontrol harus diikuti untuk mencegah subkultur yang berlebihan yang dapat meningkatkan resiko perubahan fenotip biakan. Satu "*pasase*" didefinisikan sebagai pemindahan mikroba dari biakan hidup ke media segar dengan pertumbuhan mikroorganisme. Setiap bentuk subkultur dianggap sebagai satu *pasase*/pemindahan.

#### PEMELIHARAAN PERALATAN LABORATORIUM

Sebagian besar peralatan laboratorium (seperti inkubator, tangas air dan otoklaf) menjadi pokok praktek validasi baku untuk kualifikasi alat, kualifikasi operasional dan kualifikasi kinerja. Biasanya diperlukan tambahan kalibrasi secara periodik (umumnya setiap tahun). Peralatan baru yang kritical untuk pengoperasian laboratorium, hendaknya dikualifikasi menurut protokol yang disetujui oleh unit jaminan mutu.

Alat (pH meter dan spektrofotometer) yang digunakan di laboratorium mikrobiologi hendaknya di kalibrasi dengan jadwal teratur dan diuji untuk verifikasi kinerja secara rutin. Frekuensi kalibrasi dan verifikasi kinerja akan bervariasi bergantung pada tipe alat dan pentingnya peralatan untuk kelangsungan data di laboratorium.

#### LAY - OUT DAN PENGOPERASIAN LABORATORIUM

"*Lay-out*" dan rancangan laboratorium hendaknya disesuaikan dengan persyaratan praktek mikrobiologi yang baik dan keamanan laboratorium. Hal penting bahwa kontaminasi silang terhadap biakan mikroba sedapat mungkin diminimalkan dan juga penting bahwa sampel mikrobiologi di tangani dalam suatu lingkungan yang membuat pencemaran sangat tidak dimungkinkan.

Secara umum laboratorium hendaknya dibagi menjadi area bersih atau aseptik dan area biakan hidup. Area atau lingkungan dimana sampel produk steril ditangani dan diinkubasi hendaknya dijaga benar-benar bebas dari

biakan hidup. Jika pemisahan area hidup dan bersih tidak dapat dicapai, maka hendaknya ada penghalang lain dan dilakukan praktek aseptik untuk mengurangi kemungkinan kontaminasi secara tidak sengaja. Penghalang tersebut termasuk pakaian pelindung, sanitasi, dan prosedur disinfeksi dan penggunaan "Biological Safety Cabinet" (BSC) yang dirancang hanya untuk pekerjaan bersih dan aseptik. Prosedur untuk penanganan tumpahan dan kecelakaan dengan biakan hidup harus tersedia, dan semua tenaga teknis yang relevan hendaknya dilatih mengenai metode ini.

Beberapa sampel yang menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba selanjutnya memerlukan analisis laboratorium untuk mengidentifikasi kontaminasi. Bila dideteksi ada pertumbuhan, maka sampel harus segera diambil dari area bersih di laboratorium ke area biakan hidup tanpa penundaan. Subkultur, pewarnaan, identifikasi mikroba, atau investigasi operasional lain harus dilakukan di area biakan hidup dari laboratorium. Jika mungkin tiap sampel yang mengandung pertumbuhan koloni, hendaknya tidak dibuka pada area bersih laboratorium. Pemisahan secara hati-hati terhadap sampel dan bahan-bahan terkontaminasi akan mengurangi hasil positif palsu.

Staf yang ikut serta dalam aktifitas penanganan sampel hendaknya tidak masuk atau bekerja di area penanganan biakan hidup di laboratorium, kecuali dengan tindakan pencegahan, termasuk memakai baju pelindung, sarung tangan dan melakukan sanitasi tangan pada waktu keluar. Idealnya staf yang bertugas pada kegiatan sampling, terutama yang menunjang proses aseptik, hendaknya tidak bekerja di sekitar area biakan hidup di laboratorium. Juga seluruh sampel mikrobiologi hendaknya ditangani menggunakan teknik aseptik, termasuk dalam menunjang produk tidak steril. Jika memungkinkan semua sampel mikrobiologi hendaknya ditangani di bawah kondisi aseptik penuh dalam area sampling khusus.

Penting untuk dipertimbangkan bahwa selalu ada kemungkinan kontaminasi mikroba pada sampel yang menyebabkan hasil positif palsu, kecuali tindakan pencegahan secara aseptik dilakukan dengan hati-hati. Fasilitas harus dirancang sehingga bahan baku dan sampling zat tambahan dapat dilakukan dalam kondisi terkontrol termasuk tepat "gowning" dan pensterilan peralatan sampling yang tepat. Tidak selalu memungkinkan menunjukkan sistem sampling seperti sistem air, sepenuhnya di bawah kondisi aseptik, bagaimanapun jika sampel diambil tidak secara aseptik, reabilitasnya harus dikompromikan.

Metode sampling untuk lingkungan hendaknya mempunyai penanganan aseptik minimal untuk peralatan sampling dalam keadaan isi maupun kosong. Bila memungkinkan peralatan sampling disertai media rekoveri mikrobiologi pada lingkungan yang menjadi sampel.

Semua pengujian di laboratorium yang menggunakan prosedur pengujian kritikal, seperti uji sterilitas bentuk sediaan akhir, produk ruahan, kultur benih atau biakan sel yang digunakan dalam produksi biologi, hendaknya dilakukan di bawah kondisi terkendali. Teknologi isolator

juga sesuai untuk hal-hal kritis, dalam pengujian mikrobiologi yang steril. Isolator telah terbukti memiliki tingkat pencemaran lingkungan lebih rendah dari pada ruangan bersih, dan umumnya lebih sedikit menimbulkan hasil positif palsu. Validasi isolator secara tepat merupakan hal penting untuk menjamin baik integritas lingkungan maupun mencegah kemungkinan hasil negatif palsu sebagai akibat dari disinfeksi secara kimia terhadap bahan-bahan yang digunakan dalam isolator.

## PELATIHAN PERSONIL

Setiap personil yang terlibat dalam pengujian produk farmasi hendaknya memiliki pendidikan, pelatihan, dan pengalaman untuk dapat melakukan pekerjaannya. Tuntutan uji mikrobiologi membutuhkan latar belakang pendidikan staf, penyelia, dan manajer di bidang mikrobiologi atau yang berhubungan dengan ilmu biologi. Mereka hendaknya mampu bertanggungjawab, dan memelihara keterampilan serta pengalaman mereka.

Prosedur pengoperasian dengan sistem koheren dibutuhkan untuk menjalankan laboratorium mikrobiologi. Prosedur ini dapat membantu dua tujuan dalam program pelatihan. Pertama adalah adanya Prosedur Operasional Baku (POB) yang menggambarkan metodologi yang harus diikuti seorang mikrobiologis untuk mendapatkan hasil akurat dan reproduibel sehingga dapat dijadikan dasar pelatihan. Kedua, dengan mengetahui jejak prosedur yang menunjukkan kemahiran mikrobiologis, nomer atau judul prosedur dapat membantu mengidentifikasi pelatihan spesifik apa yang telah diterima mikrobiologis untuk fungsi pekerjaannya.

Program pelatihan hendaknya ditetapkan bagi setiap anggota staf laboratorium secara spesifik untuk fungsi pekerjaannya. Mereka hendaknya tidak melakukan uji mikrobiologi secara bebas sebelum dinyatakan memiliki kualifikasi untuk menjalankan uji tersebut. Catatan dan pendokumentasian pelatihan mikrobiologis hendaknya dimutakhirkan dalam revisi POB khusus.

Penilaian kinerja secara berkala adalah modal yang baik dalam kualitas data. Uji kinerja ini harus dapat memberikan bukti kompetensi dalam kegiatan inti laboratorium mikrobiologi seperti kebersihan, pembuatan lempeng, teknik aseptik, dokumentasi, dan lainya seperti yang disarankan oleh fungsi dari pekerjaan mikrobiologis.

Mikrobiologis dengan tanggung jawab pengawasan atau manajerial harus memiliki pendidikan yang sesuai dan pelatihan "in-house" dalam keterampilan pengawasan, keamanan laboratorium, penjadwalan, investigasi laboratorium, teknik penulisan laporan, POB yang relevan, dan aspek penting lain dari pengelolaan laboratorium seperti yang disarankan dalam peran mereka untuk menjalankan fungsi laboratorium.

## DOKUMENTASI

Dokumentasi harus cukup menggambarkan bahwa uji dilakukan di laboratorium dan dengan metode terkendali.



Hal ini mencakup, namun tidak terbatas pada dokumentasi berikut:

- Pelatihan mikrobiologi dan verifikasi keahlian.
- Validasi peralatan, kalibrasi, dan perawatan.
- Kinerja peralatan selama pengujian (contoh catatan bagan 24 jam / 7 hari)
- Penyiapan media, pemeriksaan sterilitas dan uji fertilitas dan selektivitas.
- Inventarisasi dan pengujian kontrol media
- Komponen penting dari pengujian yang dilakukan dalam prosedur khusus.
- Data dan verifikasi perhitungan.
- Laporan yang diperiksa oleh unit jaminan mutu atau manager yang bertanggung jawab.
- Investigasi data yang menyimpang (jika diperlukan).

#### PEMELIHARAAN CATATAN LABORATORIUM

Pencatatan data dan studi yang tepat sangat penting bagi keberhasilan laboratorium mikrobiologi. Prinsip utama adalah bahwa pengujian harus dilakukan seperti yang tertulis dalam POB, POB hendaknya ditulis untuk mencerminkan bagaimana pengujian dilakukan yang sebenarnya dan buku catatan laboratorium harus memuat catatan semua hal penting secara rinci yang diperlukan untuk memastikan integritas data. Laporan tertulis laboratorium minimal mencakup hal berikut :

- tanggal
- bahan yang diuji
- nama penguji
- nomor prosedur
- dokumen hasil uji
- penyimpangan (jika ada)
- parameter terdokumen (peralatan, mikroba *biakan persediaan* dan media yang digunakan)
- tandatangan manajemen / pemeriksa kedua

Setiap bagian kritikal dari peralatan, harus dicatat di dalam laporan tertulis dan semua peralatan harus dikalibrasi dengan jadwal terdokumentasi dalam POB dan catatan pemeliharaan. Bila diperlukan hendaknya tersedia "logbook" atau formulir yang mendukung buku catatan laboratorium. Suhu peralatan (penangas air, inkubator, otoklaf) harus dicatat dan mampu telusur.

Pengaturan POB dan revisi hendaknya dicatat secara jelas dalam laporan tertulis Perubahan dalam data harus dicoret dengan garis tunggal dan diparaf. Data asli tidak boleh dihapus atau ditutupi.

Hasil pengujian termasuk angka lempeng asli, seharusnya memungkinkan digunakan pemeriksa untuk menghitung kembali perolehan hasil uji akhir. Metode untuk analisis data harus disebutkan rinci dalam POB.

Semua catatan laboratorium harus diarsipkan dan dilindungi terhadap risiko bencana. Catatan penyimpanan yang formal dan program pengambilannya harus berada pada tempatnya.

#### INTERPRETASI HASIL PENGUJIAN

Hasil pengujian mikrobiologi analitik dapat sulit diinterpretasikan untuk beberapa alasan penting : (1) Mikroba ada dimana-mana di alam dan umumnya pencemar lingkungan, terutama organisme yang berhubungan dengan manusia mendominasi berbagai jenis analisis mikrobiologi; (2) Analisis berpotensi untuk mengkontaminasi selama penanganan sampel atau proses di laboratorium; (3) Mikroba tidak mungkin tersebar merata dalam sampel atau lingkungan dan (4) Pengujian mikrobiologi menjadi sasaran hasil yang sangat bervariasi. Oleh karena itu perbedaan kecil dari hasil yang diinginkan mungkin tidak akan bermakna.

Karena karakteristik analisis mikrobiologi tersebut, studi laboratorium harus dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari kontaminasi dari luar seperti diskusi sebelumnya pada bab ini. Sama pentingnya, hasil harus diinterpretasikan dari pertimbangan perspektif mikrobiologi yang luas, tidak hanya dugaan kontaminan alami, tetapi kemungkinan adalah organisme yang bertahan hidup dalam komposisi produk farmasi, zat tambahan atau lingkungan pengujian. Sebagai tambahan, karakteristik pertumbuhan mikroba hendaknya dipertimbangkan (khususnya untuk pertanyaan tentang pertumbuhan jamur *filamentous* dalam media cair).

Ketika hasil yang diamati tidak sesuai dengan monografi kompendial, atau target kuantitatif yang diinginkan, maka diperlukan investigasi untuk menemukannya. Ada dua alasan jelas untuk pengamatan kontaminasi mikroba yang tidak memenuhi target atau persyaratan : 1). Mungkin ada kesalahan laboratorium atau kondisi lingkungan laboratorium yang mengakibatkan hasil yang tidak valid, atau produk mengandung kontaminasi atau jenis kontaminan spesifik di luar tingkat atau batas yang ditetapkan atau terbatas. Dalam kasus ini, manajemen laboratorium dan pada kebanyakan kasus, manajemen umum harus segera diberitahu.

Evaluasi secara lengkap dan komprehensif tentang situasi di sekitar hasil, hendaknya dilakukan. Semua kondisi mikrobiologi atau faktor yang dapat mempengaruhi kondisi yang diamati harus benar-benar dipertimbangkan, termasuk besarnya penyimpangan dibandingkan dengan batas atau tingkat yang telah ditetapkan. Hal ini sangat penting untuk diketahui apakah temuan bermakna secara statistik mengingat variabilitas pengujian.

Lingkungan laboratorium, kondisi perlindungan di tempat sampling, riwayat temuan mengenai bahan yang diuji, dan sifat alami bahan, terutama yang berkaitan dengan kelangsungan hidup atau proliferasi mikroba yang berhubungan dengan materi, hendaknya dipertimbangkan dalam investigasi. Sebagai tambahan, wawancara dengan analisis laboratorium mungkin dapat memberikan informasi sehubungan dengan pelaksanaan pengujian yang sebenarnya akan berguna dalam menentukan realibilitas hasil dan tindakan program pelatihan yang tepat. Jika kegiatan laboratorium teridentifikasi sebagai penyebab hasil uji tidak sesuai, maka harus dilakukan

rencana tindakan perbaikan untuk menyelesaikan masalah. Setelah persetujuan dan pelaksanaan rencana tindakan perbaikan, situasi hendaknya dipantau secara hati-hati dan ditentukan tindakan perbaikan yang memadai.

Jika hasil pengujian tidak valid berdasarkan pada temuan kesalahan yang timbul, tindakan perbaikan harus didokumentasikan. Laboratorium juga hendaknya telah mempunyai prosedur untuk uji konfirmasi (uji ulang) dan jika perlu, sampling kembali apabila peraturan khusus dari regulator atau panduan kompendial tidak mengatur pelaksanaan uji investigasi.

## PROSEDUR DISOLUSI : PENGEMBANGAN DAN VALIDASI <1353>

### UMUM

Prosedur disolusi memerlukan suatu alat, media disolusi dan kondisi uji yang memberikan metode diskriminatif (mampu membedakan), sesuai ketegaran dan keberulangannya untuk dilakukan penetapan dari hari ke hari dan mampu dilakukan antar laboratorium.

Kriteria penerimaan harus dapat mewakili beberapa betas dengan komposisi nominal yang sama dan proses pembuatannya, termasuk betas yang digunakan dalam penelitian dan mewakili kinerja dalam studi stabilitas.

Prosedur harus mampu membedakan dengan tepat perubahan bermakna dalam komposisi atau proses pembuatan yang mungkin dapat mempengaruhi kinerja *in-vivo*. Mungkin juga prosedur menunjukkan perbedaan antar betas ketika tidak ada perbedaan bermakna yang diamati dalam *in vivo*. Situasi ini memerlukan evaluasi saksama apakah prosedur terlalu sensitif atau memang mampu membedakan dengan tepat. Menilai hasil dari beberapa betas yang memperlihatkan variabilitas khas dalam parameter komposisi dan pembuatan, dapat membantu dalam evaluasi ini. Kadang-kadang merupakan hal yang berharga, untuk secara sengaja membuat variasi parameter pembuatan, seperti lubrikasi, waktu pencampuran, gaya tekan, atau parameter pengeringan, untuk lebih lanjut mencirikan kemampuan pembedaan dari prosedur.

Dengan mempertimbangkan stabilitas, uji disolusi harus menunjukkan perubahan yang sesuai terhadap sediaan obat dari waktu ke waktu yang disebabkan oleh suhu, kelembaban, fotosensitivitas dan tekanan lainnya.

Suatu uji yang dirancang dengan baik, harus memberikan data yang tidak terlalu bervariasi dan tidak dikaitkan dengan masalah stabilitas yang bermakna dari larutan analitik. Variabilitas yang tinggi dari hasil uji, menyebabkan sukar untuk melakukan identifikasi kecenderungan atau efek dari perubahan formulasi. Hasil disolusi dapat sangat bervariasi jika simpangan baku relatif (SBR) lebih besar dari 20% pada titik waktu tidak lebih dari 10 menit atau kurang dan (SBR) lebih besar 10% pada titik waktu selanjutnya. Namun, kebanyakan hasil disolusi menunjukkan variabilitas yang kurang dari nilai tersebut diatas. Sumber variabilitas harus

diinvestigasi dan harus dilakukan usaha untuk mengurangi variabilitas, bila memungkinkan. Dua penyebab yang paling mungkin adalah formulasi (contoh: zat aktif, zat tambahan, atau proses pembuatan) dan peralatan yang berhubungan dengan prosedur uji (contoh: pengerucutan ("*coning*"), tablet melekat pada dinding labu disolusi atau kawat keranjang). Pengamatan visual sering berguna untuk memahami sumber variabilitas dan apakah uji disolusi itu sendiri berkontribusi terhadap variabilitas. Hasil yang menyimpang dapat terjadi, setiap kali kandungan sediaan tidak bebas terdispersi di seluruh labu secara seragam. Tergantung pada masalahnya, biasanya dilakukan perbaikan termasuk mengganti tipe alat, kecepatan pengadukan atau awaudara; pertimbangan dan/atau pemeriksaan tipe singker; dan perubahan komposisi media. Modifikasi alat mungkin juga berguna dengan alasan yang tepat dan divalidasi.

Banyak penyebab variabilitas dapat ditemukan dalam formulasi dan proses pembuatan. Sebagai contoh, keseragaman sediaan yang buruk, ketidakkonsistenan proses, reaksi yang terjadi pada kecepatan yang berbeda selama disolusi, interaksi zat tambahan atau interferensi/gangguan, salut film, penuaan cangkang kapsul, dan pengerasan atau pelunakan bentuk sediaan pada stabilitas dapat menjadi sumber variabilitas dan interferensi. Selama pengujian rutin produk, variabilitas diluar rentang yang diharapkan harus diinvestigasi dari sudut analisis, formulasi dan proses pembuatan.

### MEDIA

Data fisika dan kimia untuk bahan obat dan sediaan perlu ditentukan sebelum memilih media disolusi. Dua kunci sifat obat adalah kelarutan dan tingkat stabilitas larutan obat sebagai fungsi dari nilai pH. Ketika memilih komposisi media, pengaruh dapar, nilai pH, dan surfaktan pada kelarutan dan stabilitas obat perlu dievaluasi. Sifat utama dari sediaan yang mempengaruhi disolusi, termasuk mekanisme pelepasan (segera, tunda, atau modifikasi) dan kecepatan disintegrasi yang dipengaruhi oleh kekerasan, friabilitas/kerapuhan, adanya bahan peningkat kelarutan, dan adanya zat tambahan lainnya.

Pada umumnya, ketika mengembangkan prosedur disolusi, tujuan utama adalah memperoleh kondisi tenggelam ("*sink condition*") yang didefinisikan sebagai volume media minimal tiga kali yang diperlukan untuk membentuk suatu larutan jenuh bahan obat. Pada saat kondisi tenggelam sudah terbentuk, hasil disolusi akan mencerminkan sifat bentuk sediaan. Suatu media yang gagal membentuk kondisi tenggelam, mungkin dapat diterima jika terbukti lebih mampu menunjukkan pembedaan atau memberikan alasan lain yang tepat.

Menggunakan campuran pelarut organik-pelarut berair sebagai media disolusi tidak dianjurkan; akan tetapi media jenis ini dapat diterima dengan alasan yang tepat.

Air murni sering digunakan sebagai media disolusi, tetapi tidak ideal karena beberapa alasan. Pertama, kualitas air dapat beragam tergantung pada sumber air, dan nilai pH air yang tidak dapat dikendalikan. Kedua, nilai pH dapat beragam dari hari ke hari dan dapat juga

berubah selama pengujian, tergantung zat aktif dan zat tambahan. Terlepas dari keterbatasan ini, air tidak mahal, siap tersedia, mudah dibuang, secara ekologi dapat diterima, dan sesuai untuk produk dengan kecepatan pelepasan yang tidak tergantung pada nilai pH media.

Karakteristik disolusi dari formulasi oral harus dievaluasi dalam rentang pH fisiologis 1,2 - 6,8 (1,2 - 7,5 untuk formulasi sediaan lepas modifikasi). Selama pengembangan metode, mengukur pH sebelum dan sesudah pengujian dapat berguna untuk mengetahui apakah pH berubah selama pengujian. Pemilihan kondisi metode yang paling tepat untuk pengujian rutin berdasarkan pada kapabilitas pembeda, ketegaran ("ruggeness"), stabilitas analit dalam media uji dan relevansi terhadap kinerja "in vivo", jika memungkinkan.

Jenis media untuk disolusi dapat termasuk berikut (tidak terdaftar berdasarkan rekomendasi): asam klorida encer, dapar dalam rentang pH fisiologis 1,2 - 7,5; cairan lambung buatan atau cairan usus buatan (dengan atau tanpa enzim) air dan surfaktan (dengan atau tanpa asam atau dapar) seperti polisorbitat 80, natrium lauril sulfat dan garam empedu.

Molaritas dapar dan asam yang digunakan dapat mempengaruhi efek melarutkan dan faktor ini mungkin dapat dievaluasi.

Untuk senyawa dengan kelarutan tinggi dan permeabilitas tinggi, pemilihan media dan alat dapat berpengaruh.

Untuk senyawa yang sangat buruk kelarutannya, larutan air mengandung persentase suatu surfaktan (contoh: natrium lauril sulfat, polisorbitat, laurildimetilamin oksida) dapat digunakan untuk menambah kelarutan obat. Kebutuhan surfaktan dan konsentrasi yang digunakan dapat dibenarkan dengan menunjukkan profil pada beberapa konsentrasi yang berbeda. Surfaktan dapat digunakan sebagai bahan pembasah atau untuk melarutkan bahan obat.

### Volume

Umumnya, untuk pengaduk keranjang dan dayung, volume media disolusi adalah 500 - 1000 ml. Volume yang paling umum adalah 900 ml. Volume dapat dinaikkan menjadi antara 2000 dan 4000 ml, menggunakan labu yang lebih besar dan tergantung pada konsentrasi dan kondisi tenggelam dari obat; diharapkan ada alasan untuk prosedur ini.

### Awardara

Peran awardara pada media harus ditentukan, karena gelembung udara dapat mengganggu hasil uji, sebagai suatu penghalang untuk terjadi disolusi jika ada pada sediaan atau pada kawat keranjang. Selanjutnya, gelembung udara dapat menyebabkan partikel melekat pada alat dan dinding labu. Disamping itu, gelembung pada sediaan mungkin dapat meningkatkan daya apung, mengakibatkan meningkatnya laju disolusi atau menurunnya daerah permukaan yang tersedia sehingga menurunnya laju disolusi. Metode awardara digambarkan

pada catatan kaki pada *Prosedur* seperti tertera dalam *Uji Disolusi* <1231>. Langkah-langkah tersebut antara lain pemanasan media, penyaringan, dan menarik vakum untuk waktu singkat. Metode awardara lainnya, tersedia dan secara rutin digunakan di industri. Media yang mengandung surfaktan biasanya tidak diawardara karena hasil proses awardara memberikan reaksi penyabunan yang berlebihan. Untuk menentukan apakah diperlukan awardara terhadap media, hasil dari sampel disolusi dengan dan tanpa dilakukan awardara terhadap media, harus dibandingkan.

### Enzim

Penggunaan enzim pada media disolusi diperbolehkan sesuai yang tertera pada *Uji Disolusi* <1231> ketika disolusi gagal sebagai akibat dari "cross-linking" (silang antara) dengan kapsul gelatin dan produk salut gelatin.

### Korelasi *in vitro* - *in vivo*

Media biorelevan adalah media yang memiliki beberapa korelasi terhadap kinerja sediaan secara *in vivo*. Pemilihan suatu media biorelevan berdasarkan pada (1) suatu pendekatan mekanik yang mempertimbangkan tempat absorpsi, jika diketahui, dan (2) apakah "rate-limiting step" dari absorpsi adalah disolusi atau permeabilitas senyawa. Dalam beberapa kasus, media biorelevan akan berbeda dari kondisi uji yang dipilih untuk pengujian yang ditetapkan dan juga titik waktu yang berbeda. Jika senyawa melarut cepat di lambung dan permeabilitas tinggi, maka waktu pengosongan lambung mungkin merupakan "rate-limiting step" dari absorpsi. Dalam hal ini, uji disolusi seharusnya menunjukkan bahwa obat dilepaskan dengan cepat pada kondisi lambung (asam). Disamping itu, jika disolusi terjadi terutama pada saluran pencernaan (contoh: untuk yang larut buruk, asam lemah), rentang pH lebih tinggi (contoh: cairan usus buatan dengan pH 6,8) mungkin lebih sesuai. Pada kondisi makan dan berpuasa mungkin juga memiliki efek bermakna terhadap absorpsi atau kelarutan senyawa. Komposisi media untuk kondisi makan dan berpuasa dapat ditemukan pada literatur. Media ini menggambarkan perubahan pH, konsentrasi empedu dan osmolaritas setelah makan. Oleh karena itu terdapat perbedaan komposisi dari media kompendial. Media tersebut terutama digunakan untuk menetapkan korelasi "in vitro-in vivo" selama pengembangan formulasi dan untuk menilai efek potensial terhadap makanan dan tidak direncanakan untuk tujuan kontrol kualitas. Untuk tujuan kontrol kualitas, penggantian surfaktan dari alam (komponen empedu) dengan surfaktan buatan yang tepat, diperbolehkan dan dianjurkan karena mahalnya biaya bahan dari alam dan persiapan intensif dari media biorelevan.

## ALAT/PENGADUK

### Alat

Pemilihan alat berdasarkan pada pengetahuan rancangan formulasi dan praktek aspek kinerja bentuk sediaan pada sistem uji "in vitro". Untuk bentuk sediaan padat oral, alat tipe 1 dan tipe 2 yang paling sering digunakan.

Ketika alat tipe 1 atau tipe 2 tidak sesuai, alat lain mungkin dapat digunakan. Alat tipe 3 ("Reciprocating Cylinder") sudah digunakan untuk bentuk sediaan "bead-type modified-release". Alat tipe 4 ("Flow-Through Cell") dapat memberikan keuntungan untuk bentuk sediaan lepas-modifikasi yang mengandung bahan aktif dengan kelarutan terbatas. Disamping itu, alat tipe 3 atau tipe 4 memiliki kegunaan untuk kapsul gelatin lunak, "bead product", suppositoria atau obat dengan kelarutan rendah. Alat tipe 5 (Paddle over Disk) dan alat tipe 6 (Rotating Cylinder) digunakan untuk evaluasi dan uji dari bentuk sediaan transdermal. Alat tipe 7 (Reciprocating Holder) digunakan untuk bentuk sediaan oral non disintegrasi lepas-modifikasi, seperti pada bentuk sediaan transdermal.

Beberapa perubahan dapat dibuat pada alat; contoh: ukuran mesh suatu keranjang dengan ukuran selain 40 mesh (antara lain 10, 20, 80 mesh) dapat digunakan ketika kebutuhan tersebut jelas didokumentasikan oleh data pendukung. Jika teredia berbagai ukuran mesh yang dipersyaratkan FI, bahan keranjang dengan dimensi metrik terdekat harus digunakan. Perlu diperhatikan bahwa keranjang harus seragam dan memenuhi persyaratan dimensi, seperti tertera pada Uji Disolusi <1231>. Jika permukaan keranjang menjadi tersumbat selama disolusi formulasi kapsul atau tablet, dianjurkan untuk menukar dengan metode pengaduk dayung. Volume dapat ditingkatkan dari 900 - 1000 ml dengan menggunakan labu 2000 - 4000 ml untuk membantu membentuk kondisi tenggelam pada obat dengan kelarutan rendah.

Suatu alat nonkompendial memiliki beberapa kegunaan dengan pembenaran yang tepat, kualifikasi dan pendokumentasian yang lebih unggul di atas alat standar. Contoh, suatu alat volume kecil dengan pengaduk dayung dan keranjang berukuran kecil (mini), dapat dipertimbangkan untuk produk dengan kekuatan dosis rendah. Botol berputar atau tabung statik (tabung stasioner berjaket tertutup dengan jaket air dan dilengkapi dengan suatu pengaduk magnetik) juga memiliki kegunaan untuk mikrosfer dan implan, labu yang tinggi untuk menghilangkan pengerucutan (coning) dan modifikasi alat tipe 4 untuk bentuk sediaan khusus termasuk serbuk dan "stents".

### Singker

Ketika singker digunakan, deskripsi singker harus diuraikan pada prosedur tertulis. Hal ini berguna untuk mengevaluasi perbedaan singker, mengenali bahwa singker dapat berpengaruh secara bermakna terhadap

profil disolusi suatu sediaan. Ketika prosedur diganti, singker harus diduplikasi/ditiru sedekat mungkin dalam fasilitas berikutnya. Terdapat beberapa tipe singker yang tersedia di perdagangan. Metode untuk membuat sendiri singker menggunakan tangan, singker yang mirip dengan 'beberapa putaran berbentuk spiral dari kawat' seperti yang diuraikan pada Alat tipe 2 (Alat Dayung) dalam Uji Disolusi <1231> digambarkan berikut ini.

**Bahan** Gunakan kawat baja tahan karat 316 atau bahan iner lain, biasanya 0,032 inchi/20 gauge; dan silinder dengan diameter yang sesuai (antara lain gabus). Ukuran dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tipe cangkang kapsul	Panjang kabel	Ukuran diameter (cm)	Nomor gabus
#0, memanjang	12	0,8	4
#1 dan #2	10	0,7	3
#3 dan #4	8	0,55	2

**Prosedur** Potong kawat dengan panjang tertentu, gulung mengelilingi silinder dengan ukuran yang sesuai, dan gunakan tang kecil untuk memelintirkan pada ujung kawat. Perhatikan ketika digunakan, karena ujung kawat mungkin kasar dan perlu dihaluskan.

Jika singker dibuat sendiri (menggunakan tangan), bahan singker dan penyusunan petunjuk prosedur harus didokumentasikan; jika menggunakan singker yang dibeli, nomor tipe harus dicatat.

### Pengadukan

Untuk formulasi kapsul atau tablet lepas segera, alat tipe 1 (keranjang) pada 100 rpm atau alat tipe 2 (dayung) pada 50 atau 75 rpm paling banyak digunakan. Kecepatan pengadukan dan alat lain dapat diterima dengan pembenaran yang tepat.

Kecepatan di luar rentang 25 - 150 rpm biasanya tidak tepat karena ketidakkonsistensian hidrodinamik di bawah 25 rpm dan karena turbulensi di atas 150 rpm. Kecepatan pengadukan antara 25 dan 50 rpm umumnya dapat diterima untuk suspensi. Untuk bentuk sediaan yang menunjukkan pengerucutan (coning-mounding) dengan menggunakan pengaduk dayung pada 50 rpm, pengerucutan (coning) dapat dikurangi dengan meningkatkan kecepatan dayung sampai 75 rpm, kemudian mengurangi bagian-bagian kecil yang terlepas dan memperbaiki data. Dengan pembenaran, 100 rpm mungkin dapat digunakan, terutama untuk sediaan lepas lambat. Penurunan atau peningkatan kecepatan perputaran alat dapat dibenarkan jika profil yang lebih baik dalam menggambarkan kinerja "in vivo" dan/atau hasil metode menghasilkan perbedaan yang lebih baik tanpa mempengaruhi keberulangan metode.

Pemilihan pengadukan dan parameter lain untuk bentuk sediaan lepas-modifikasi mirip dengan sediaan lepas segera. Parameter tersebut harus sesuai dengan persyaratan dan spesifikasi yang tertera pada Uji Disolusi <1231> ketika alat telah dikalibrasi dengan tepat.

## Pengamatan

### RANCANGAN PENGUJIAN

#### Titik Waktu

Untuk bentuk sediaan lepas segera, lamanya prosedur biasanya 30 - 60 menit. Umumnya spesifikasi satu titik waktu, cukup untuk persyaratan Farmakope. Konsep pada industri dan regulasi untuk kinerja dan kesesuaian produk mungkin memerlukan titik waktu tambahan yang juga mungkin diperlukan untuk pendaftaran atau persetujuan produk. Sejumlah titik waktu yang memadai, harus dipilih untuk cukup membedakan fase naik dan fase plato dari kurva disolusi. Menurut sistem klasifikasi biofarmasi, obat sangat larut dan sangat permiabel diformulasi untuk produk yang melarut dengan cepat, tidak perlu menggunakan perbandingan profil jika produk obat dapat menunjukkan pelepasan zat aktif obat tidak kurang dari 85% selama 15 menit. Untuk jenis produk ini, uji satu titik sudah cukup memadai. Bagaimanapun juga, kebanyakan produk tidak termasuk dalam kategori ini. Profil disolusi untuk produk lepas segera, biasanya menunjukkan suatu peningkatan bertahap mencapai 85% sampai 100% pada lebih kurang 30 - 45 menit. Kemudian titik waktu disolusi dalam rentang 15, 20, 30, 45 dan 60 menit biasanya untuk kebanyakan produk lepas segera. Untuk produk yang melarut dengan cepat, termasuk suspensi, informasi yang berguna mungkin diperoleh dari titik-titik waktu sebelumnya, misalnya 5 - 10 menit. Untuk produk yang melarut lebih lambat, titik waktu lebih dari 60 menit dapat digunakan. Titik-titik waktu uji disolusi untuk uji pada kompendia, biasanya ditetapkan berdasarkan suatu evaluasi data profil disolusi.

Titik waktu tak terbatas dapat berguna selama pengembangan penelitian. Untuk memperoleh waktu tak terbatas, kecepatan pengaduk dayung atau keranjang ditingkatkan pada akhir uji untuk periode berikutnya (biasanya 15 - 60 menit), setelah dilakukan uji dengan tambahan titik waktu. Meskipun tidak ada persyaratan untuk disolusi 100% pada profil disolusi, waktu tak terbatas dapat memberikan data yang dapat menambah keseragaman data dan memberikan informasi berguna tentang karakteristik formulasi selama awal pengembangan atau tentang ketidaktepatan metode.

Untuk bentuk sediaan lepas lambat, minimal tiga titik waktu uji yang dipilih untuk mengkarakterisasi profil pelepasan obat secara "in vitro" untuk memenuhi persyaratan farmakope. Penambahan titik waktu mungkin diperlukan untuk tujuan perizinan obat. Pada titik waktu awal, biasanya 1 - 2 jam, dipilih untuk menunjukkan adanya kemungkinan kecil dosis terbuang. Pada titik waktu menengah, dipilih untuk menunjukkan profil pelepasan bentuk sediaan secara "in vitro", dan pada titik waktu akhir, pada dasarnya menunjukkan pelepasan obat secara keseluruhan. Titik-titik waktu uji dan spesifikasi biasanya ditetapkan berdasarkan pada evaluasi data profil pelepasan obat. Untuk produk yang mengandung lebih dari satu bahan aktif, pelepasan obat ditentukan untuk masing-masing bahan aktif.

Pengamatan visual, pencatatan disolusi dan disintegrasi produk sangat berguna karena pola disolusi dan disintegrasi dapat menjadi indikasi dari variabel dalam formulasi atau proses produksi. Untuk melakukan pengamatan visual, sangat penting adanya pencahayaan yang tepat pada isi labu (dengan pertimbangan ada tidaknya fotodegradasi) dan visibilitas dari tangas. Mendokumentasikan pengamatan dengan menggambar sketsa dan mengambil foto atau video dapat menjadi pelajaran dan berguna untuk personil yang tidak dapat mengamati saat dilakukan uji disolusi. Pengamatan terutama berguna selama pengembangan metode dan optimasi formulasi. Berikut contoh pengamatan khas, namun tidak terbatas pada di bawah ini:

1. Tidak meratanya distribusi partikel pada labu. Hal ini dapat terjadi saat partikel melekat pada sisi labu, ketika ada pengerucutan (*coning-mounding*) secara langsung pada alat, saat partikel mengambang pada permukaan media, saat tablet salut selaput menempel pada labu, dan/atau saat terbentuk "*mounds*" di tengah-tengah.
2. Gelembung udara dalam labu atau pada alat atau pada sediaan. Kilau pada alat juga merupakan tanda adanya gelembung udara. Pengamatan ini, biasanya akan dilakukan ketika menilai kebutuhan untuk awaudara media.
3. Berputarnya sediaan atau sediaan terbentur pengaduk dayung.
4. Adhesi partikel terhadap pengaduk dayung atau bagian dalam dari keranjang, yang mungkin dapat diamati pada pergerakan pengadukan pada akhir proses disolusi.
5. "*Pellicles*" atau formasi yang analog seperti kantong transparan atau karet, mengembangnya massa disekitar isi kapsul.
6. Adanya partikel besar atau potongan sediaan yang mengambang.
7. Pengamatan kecepatan disintegrasi (contoh, persentase penurunan unit dosis dalam jangka waktu tertentu)
8. Disintegrasi kompleks dari penyalutan yang dimodifikasi atau produk salut enterik. Contoh : terbuka sebagian dan membelah terpisah (seperti kulit kerang) atau terbukanya cangkang secara tidak sempurna disertai dengan pelepasan gelembung udara dan zat tambahan.

#### Sampling

**Manual Sampling** secara manual menggunakan siring dari plastik atau kaca, suatu kanula dari baja tahan karat yang biasanya melengkung untuk memungkinkan sampling pada labu, suatu penyaring dan/atau suatu pemegang penyaring. Posisi sampling harus disesuaikan dengan spesifikasi yang tertera pada *Uji Disolusi* <1231>

**Autosampling** Sampling secara otomatis (*autosampling*) adalah alternatif lain sampling secara

manual yang berguna khususnya jika uji dilakukan pada beberapa titik waktu. Tetapi karena aturan pada laboratorium dalam menjalankan uji disolusi menggunakan sampling manual, maka "autosampling" memerlukan validasi terhadap sampling manual.

Ada banyak merk "autosamplers", termasuk sistem semiotomatis dan otomatis penuh. Pemeriksaan kinerja yang dilakukan secara rutin, pembersihan dan perawatan seperti yang diuraikan pada prosedur operasional baku atau dokumen metrologi merupakan hal-hal yang berguna untuk pemakaian yang dapat dipercaya dari alat ini.

Beberapa alat dilengkapi dengan sampling melalui keranjang atau batang pengaduk dayung. Validasi yang tepat (antara lain menunjukkan kesetaraan terhadap hasil dengan prosedur sampling yang biasa dilakukan) mungkin diperlukan.

Gangguan hidrodinamika labu oleh alat pengambil sampel harus dipertimbangkan dan dilakukan validasi yang memadai untuk memastikan bahwa alat tidak menyebabkan perubahan yang bermakna terhadap laju disolusi.

Perbandingan prosedur manual dan otomatis harus dilakukan untuk mengevaluasi pergantian prosedur. Hal ini dapat dicapai dengan membandingkan data dari dua prosedur sampling secara terpisah atau dalam beberapa kasus, sampling dengan ke dua cara tersebut dilakukan pada labu yang sama. Hasil harus konsisten dengan persyaratan untuk presisi antara (diuraikan pada bagian *Validasi*) jika prosedur diganti.

Aspek lain dari validasi proses otomatisasi, dapat mencakup sisa-sisa residu obat, pengaruh alat (sampling secara simultan yang disebutkan diatas tidak sesuai dengan kasus ini), adsorpsi obat, dan siklus pembersihan dan/atau pembilasan.

### Penyaring

Penyaringan sampel disolusi biasanya diperlukan untuk mencegah partikel obat yang tidak melarut, masuk ke dalam sampel analitik dan kemudian melarut. Penyaringan juga menghilangkan zat tambahan tidak larut yang mungkin menyebabkan latar belakang tinggi atau kekeruhan. Pembasahan awal dengan media terhadap penyaring mungkin diperlukan.

Penyaring dapat sejalan atau pada akhir alat pengambil sampel atau keduanya. Porositas penyaring dapat berkisar antara 0,45 - 70  $\mu\text{m}$ . Jenis penyaring yang biasa digunakan adalah "depth", cakram, dan "flow-through". Jika gangguan zat tambahan tinggi, atau filtrat tampak berkabut, atau jika penyaring tersumbat, harus dievaluasi alternatif jenis penyaring atau porositas penyaring.

Adsorpsi obat pada penyaring perlu dievaluasi. Jika adsorpsi obat terjadi, jumlah filtrat awal yang dibuang, mungkin perlu ditambah. Jika hasil masih tidak sesuai, dapat dicari suatu bahan penyaring alternatif.

Validasi penyaring dapat dicapai dengan pembuatan larutan baku yang sesuai atau larutan sampel terdisolusi sempurna (antara lain, dibuat sebagai suatu sampel yang khas dalam suatu labu atau sampel dimasukkan ke dalam gelas piala dan diaduk dengan pengaduk magnetik selama

1 jam). Untuk larutan baku, bandingkan hasil larutan yang disaring (setelah membuang volume awal yang sesuai) terhadap larutan yang tidak disaring. Untuk larutan sampel, bandingkan hasil larutan yang disaring (setelah membuang volume awal yang tepat) terhadap larutan yang disentrifus tanpa disaring.

### Sentrifugasi

Sentrifugasi sampel tidak dipilih karena disolusi dapat berlanjut dan karena mungkin ada gradien konsentrasi pada beningan. Pengecualian untuk senyawa yang mengadsorpsi pada semua penyaring yang umum digunakan.

### Penetapan Kadar

Penetapan kadar yang biasa dilakukan untuk sampel disolusi adalah penetapan secara spektrofotometri atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Metode analisis yang lebih disukai adalah penetapan secara spektrofotometri karena hasil dapat diperoleh lebih cepat, analisis lebih sederhana, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit. Metode KCKT digunakan jika ada gangguan yang bermakna dari zat tambahan atau diantara obat pada formulasi untuk memperbaiki sensitivitas analitik dan/atau ketika analisis dapat diotomatisasi. Hal ini mungkin berguna dalam memperoleh data untuk obat dengan penetapan kadar yang mengindikasikan stabilitas (misalnya kromatogram KCKT) dalam media terpilih, bahkan jika penetapan kadar didasarkan pada metode spektrofotometri.

### Validasi

Topik validasi yang diuraikan pada bagian ini adalah khas tetapi tidak semua inklusif. Elemen validasi dapat beragam, tergantung pada fase pengembangan atau kegunaan yang dimaksudkan untuk data. Kriteria penerimaan dinyatakan hanya sebagai pedoman dan dapat berbeda untuk beberapa produk. Perusahaan seharusnya mendokumentasikan kriteria penerimaan untuk produknya dalam prosedur operasional baku. Pertimbangan lain mungkin penting untuk bentuk sediaan khusus. Tingkat validasi tergantung pada fase pengembangan produk. Validasi lengkap dilaksanakan pada waktu dilakukan studi klinik fase III. Studi validasi harus menunjukkan variasi yang berhubungan dengan profil titik waktu yang berbeda. Untuk produk yang mengandung lebih dari satu bahan aktif obat, metode disolusi harus divalidasi untuk masing-masing bahan aktif.

### Spesifisitas/Gangguan Plasebo

Sangat penting untuk menunjukkan bahwa hasil tidak semestinya dipengaruhi oleh komponen plasebo, zat aktif obat lain, atau degradasinya.

Plasebo terdiri dari semua zat tambahan dan penyalut (juga termasuk zat warna, singker, dan cangkang kapsul yang sesuai) tanpa bahan aktif. Gangguan plasebo dapat ditetapkan dengan menimbang sampel campuran plasebo dan melarutkan atau mendispersikan ke dalam media disolusi pada konsentrasi yang diketahui selama uji. Diharapkan uji ini dilakukan pada suhu 37°, bandingkan dengan baku 100% dengan rumus:

$$100C \left( \frac{A_p}{A_s} \right) \left( \frac{V}{L} \right)$$

C adalah kadar baku dalam mg per ml;  $A_p$  dan  $A_s$  berturut-turut adalah serapan plasebo dan baku;  $V$  adalah volume media dalam ml; dan  $L$  adalah jumlah bahan aktif dalam mg yang tertera pada etiket. Gangguan tidak lebih dari 2%.

*Catatan Untuk produk lepas-lambat, plasebo dari bentuk sediaan akhir mungkin lebih tepat digunakan dari pada campuran, karena formulasi plasebo ini akan melepaskan beragam zat tambahan yang lebih menunjukkan produk daripada campuran sederhana dari zat tambahan. Pada kasus ini, akan tepat jika mengevaluasi gangguan potensial pada beberapa titik sampling dalam profil pelepasan.]*

Jika gangguan plasebo lebih dari 2%, maka modifikasi metode seperti: (1) pemilihan panjang gelombang lain; (2) pengurangan garis dasar menggunakan panjang gelombang yang lebih panjang; atau (3) menggunakan KCKT, mungkin diperlukan untuk mencegah gangguan. Jika ada zat aktif obat lain atau degradasinya yang bermakna, perlu ditunjukkan bahwa hal tersebut tidak mempengaruhi hasil secara bermakna. Prosedur untuk melakukan hal ini adalah mengukur matrik dengan atau tanpa zat aktif obat lain atau degradasinya: gangguan tidak lebih dari 2%.

### Linearitas dan Rentang

Linearitas dan rentang ditetapkan dengan membuat larutan obat, pada rentang kadar di bawah kadar terendah yang diharapkan hingga di atas kadar tertinggi selama pelepasan. Hal ini dapat dilakukan bersamaan dengan penetapan akurasi/perolehan kembali. Skema dapat diubah jika berbeda ukuran "flow-cell" atau volume penyuntikan yang digunakan.

Jika memungkinkan, larutan dibuat dari satu larutan persediaan yang umum. Untuk kadar tertinggi, penetapan tidak boleh melebihi batas linieritas alat.

Pelarut organik dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan obat pada pembuatan larutan baku; akan tetapi tidak lebih dari 5% (v/v) pelarut organik dalam larutan akhir yang seharusnya digunakan, kecuali dilakukan validasi.

Linearitas dapat dihitung menggunakan program "least-squares regression" yang sesuai. Koefisien korelasi kuadrat ( $r^2 \geq 0,98$ ) menunjukkan linearitas, kemiringan harus tidak berbeda secara bermakna dari nol.

### Akurasi / Perolehan kembali

Akurasi/perolehan kembali ditetapkan dengan membuat berbagai sampel yang mengandung obat dan kandungan lain yang ada dalam bentuk sediaan (antara lain zat tambahan, bahan penyalut, cangkang kapsul) pada rentang kadar di bawah kadar terendah yang diharapkan hingga di atas kadar tertinggi selama pelepasan.

Pada obat dengan kelarutan rendah, akurasi/perolehan kembali sebaiknya dilakukan dengan membuat larutan persediaan, dengan melarutkan bahan obat dalam sedikit pelarut organik (tidak lebih dari 5%) dan mengencerkan dengan media disolusi sampai kadar akhir. Sejumlah larutan persediaan yang setara dengan jumlah zat aktif yang tertera pada etiket dapat ditambahkan ke dalam labu menggantikan serbuk obat. Dengan cara yang sama, untuk obat dengan kekuatan sangat rendah, lebih baik membuat larutan persediaan daripada menimbang sejumlah sangat kecil bahan obat. Umumnya, perolehan kembali antara 95 dan 105% dari jumlah yang ditambahkan. Melakukan penggolongan matriks berbagai kadar dapat berguna pada tahap ini.

Kasus khusus untuk validasi adalah prosedur Tahap Asam yang diuraikan pada *Sediaan Lepas Tunda dalam Uji Disolusi <1231>*. Batas tidak lebih dari 10% harus divalidasi. Jika senyawa terurai dalam asam, percobaan validasi harus berdasarkan pada kenyataan ini.

### Presisi

**Keberulangan** Keberulangan ditetapkan melalui pengukuran berulang larutan baku dan/atau larutan uji. Keberulangan dapat diukur dengan perhitungan (SBR) dari beberapa kali penyuntikan atau pembacaan spektrofotometri untuk masing-masing larutan baku atau dari akurasi atau linearitas data.

**Presisi Antara (Intermediate precision)** Presisi antara dapat dievaluasi untuk menetapkan pengaruh presisi prosedur analitik secara acak. Evaluasi ini dilakukan setelah pengembangan produk obat. Dengan presisi dapat menjelaskan rentang kekuatan produk. Variasi yang diteliti adalah hari, analis dan peralatan. Penggunaan rancangan matrik percobaan mendukung evaluasi presisi antara. Jika memungkinkan, presisi antara dapat dievaluasi menggunakan lot produk obat yang memiliki karakteristik baik dan keseragaman kandungan yang baik. Bila produk berkarakteristik baik tersebut tidak tersedia, plasebo dan bahan aktif dapat digunakan untuk mengidentifikasi presisi antara.

Profil disolusi pada sampel yang sama dapat dilakukan, setidaknya pada dua analis yang berbeda, tiap analis membuat larutan baku dan media. Analis menggunakan tangas disolusi, spektrofotometer atau alat KCKT (termasuk kolom) dan *autosampler* yang berbeda dan analis melakukan uji pada hari yang berbeda. Prosedur ini mungkin tidak perlu dilakukan untuk tiap kekuatan; sebagai gantinya, kekuatan tinggi dan rendah dapat diterima.

Kriteria penerimaan adalah perbedaan pada nilai rata-rata antara hasil disolusi pada dua kondisi menggunakan kekuatan yang sama, tidak lebih 10% absolut pada titik waktu kurang dari 85% terlarut dan tidak lebih 5% untuk titik waktu diatas 85%. Kriteria penerimaan untuk produk spesifik, serta batas dan uji statistik lain dapat digunakan.

#### Ketegaran (*Robustness*)

Evaluasi ketegaran untuk menilai efek yang dibuat kecil secara disengaja dengan mengubah kondisi disolusi, dilakukan selanjutnya pada saat pengembangan produk obat. Jumlah replikasi (3 atau 6) tergantung pada presisi antara.

Parameter dapat diubah, tergantung pada prosedur disolusi dan tipe analisis. Parameter tersebut termasuk komposisi media (antara lain kadar dapar atau surfaktan), pH, volume, kecepatan pengadukan dan suhu. Untuk analisis KCKT, parameter tersebut termasuk komposisi fase gerak (persentase larutan organik, kadar dapar, pH), laju alir, panjang gelombang, suhu kolom dan berbagai kolom dengan tipe yang sama. Untuk analisis secara spektrofotometri, panjang gelombang dapat diubah.

#### Stabilitas Larutan Baku dan Larutan Uji

Larutan baku disimpan pada kondisi yang terjamin stabilitasnya. Stabilitas baku dianalisis pada periode waktu yang ditentukan, menggunakan larutan baku yang dibuat baru, pada tiap interval waktu sebagai pembanding. Rentang yang dapat diterima untuk stabilitas larutan baku adalah antara 98% dan 102%.

Larutan uji disimpan pada suhu ruang, dianalisis pada periode waktu yang ditentukan, menggunakan respons larutan uji asli sebagai pembanding. Rentang yang dapat diterima untuk stabilitas larutan uji antara 98% dan 102% dibandingkan dengan analisis awal dari larutan uji. Jika larutan tidak stabil, hal yang dapat dipertimbangkan adalah suhu (lemari pendingin mungkin diperlukan), terlindung cahaya, dan wadah bahan (plastik atau kaca).

Pada prosedur perlu dinyatakan bahwa baku dan uji dianalisis dalam periode waktu dimana larutan tersebut stabil.

#### Analisis secara Spektrofotometri

Larutan uji dapat secara otomatis diukur pada spektrofotometer menggunakan pengisap otomatis (*autosipper*) dan "flow cell". Pemeriksaan kinerja yang dilakukan secara rutin, pembersihan dan perawatan seperti yang diuraikan pada prosedur operasional baku atau dokumen metrologi merupakan hal-hal yang berguna untuk pemakaian yang dapat dipercaya dari alat ini. Biasanya digunakan sel dengan panjang pada rentang dari 0,02 - 1 cm. Posisi sel dan gelembung udara dapat menjadi sumber kesalahan. Sel dengan panjang lebih kecil digunakan untuk mencegah pengenceran larutan uji; bagaimanapun juga, linearitas yang dapat diterima dan kesalahan baku perlu ditunjukkan.

Selama analisis, biasanya larutan baku dibuat dan dianalisis hanya pada satu kadar, yaitu pada 100% (atau nilai  $Q$  yang dipilih) dari kekuatan dosis. Selama profil analisis, kadar lain dapat digunakan. Larutan blangko, baku, dan uji dapat dianalisis dalam serangkaian yang menghubungkan larutan uji dengan baku dan blangko, terutama pada awal dan akhir analisis.

Dalam kebanyakan kasus, serapan rata-rata blangko media disolusi tidak lebih dari 1% terhadap baku. Nilai yang lebih tinggi dari 1% harus dievaluasi berdasarkan kasus per kasus. (SBR) untuk analisis ultra violet biasanya tidak lebih dari 2%.

Absorptivitas dihitung dengan membagi serapan rata-rata baku dengan kadar, dalam mg per ml, dibagi dengan panjang "flow cell" dalam cm. Setelah semua data cukup terkumpul, dapat ditetapkan rentang absorptivitas yang dapat diterima untuk analit (menggunakan "flow cell" yang sesuai). Nilai ini dapat digunakan untuk mengatasi penyimpangan data.

Serat optik sebagai sampel dan metode penetapan, dengan validasi yang tepat dapat menjadi sebuah pilihan.

Pemeriksaan spektrum ultra violet dari larutan obat mungkin berguna untuk memilih panjang gelombang optimum.

#### KCKT

Untuk analisis KCKT, dapat diperiksa kesesuaian antara media disolusi dan fase gerak, terutama jika diperlukan injektor volume besar (lebih dari 100  $\mu$ l). Sampel biasanya dianalisis dengan KCKT menggunakan sebuah detektor spektrofotometrik dan penyuntik otomatis ("*auto-injector*"). Penyuntikan tunggal dari tiap labu, pada titik waktu dengan baku suatu sistem merupakan desain yang umum. Uji kesesuaian sistem mencakup sekurang-kurangnya waktu retensi dan ketepatan volume penyuntikan. Umumnya, pada analisis KCKT (SBR) tidak lebih dari 2% pada lima atau enam kali penyuntikan larutan baku. Tingkat baku biasanya pada 100% terhadap jumlah yang tertera pada etiket, terutama untuk analisis "*single-point*".

Pembuatan sampel plasebo untuk analisis KCKT dilakukan dengan cara yang sama seperti pada analisis secara spektrofotometri. Pemeriksaan kromatogram untuk puncak yang tereluasi pada waktu retensi yang sama seperti obat. Jika ada puncak lain, suntikkan larutan baku, dan bandingkan waktu retensinya. Jika waktu retensi terlalu dekat, tambahkan obat pada larutan plasebo. Kromatogram dapat juga diperoleh dari waktu tambahan menggunakan blangko (media disolusi), baku, dan larutan uji untuk mengidentifikasi bahan tereluasi terakhir yang mungkin mengganggu analisis berikutnya.

Dokumentasi validasi termasuk kromatogram atau spektra blangko media disolusi, larutan plasebo yang disaring, larutan baku, dan sampel disolusi yang disaring. Tidak adanya puncak pengganggu dalam kromatogram plasebo atau kurangnya serapan plasebo pada panjang gelombang analitik, menunjukkan spesivitas.



### Kriteria Penerimaan

Kriteria penerimaan untuk jumlah zat aktif terlarut, dinyatakan sebagai persentase jumlah yang tertera pada etiket ( $Q$ ), dalam rentang 75% - 80% terlarut. Nilai  $Q$  yang lebih dari 80% tidak umum digunakan, karena perkiraan kebutuhan dibuat untuk rentang penetapan kadar dan keseragaman kandungan. Kriteria penerimaan termasuk waktu uji yang biasa ditetapkan berdasarkan evaluasi data profil disolusi. Kriteria penerimaan harus konsisten dengan data terdahulu, dan suatu harapan bahwa bets yang dapat diterima (antara lain tidak ada perbedaan yang bermakna dalam kinerja *in-vivo*, komposisi, atau prosedur produksi) akan menghasilkan kesesuaian dengan kriteria penerimaan.

### STERILISASI DAN JAMINAN STERILITAS PADA SUATU SEDIAAN <1371>

Informasi pada bagian ini merupakan pandangan umum tentang konsep dan prinsip termasuk dalam pengendalian mutu bahan yang harus steril. Tiap perubahan atau variasi prosedur uji sterilitas yang tertera pada *Uji Sterilitas* <71> harus divalidasi dalam seluruh program jaminan sterilitas, dan tidak ditujukan untuk cara alternatif dari yang tertera pada bab *Uji Sterilitas* <71>.

Dengan definisi hakiki sterilitas dapat diartikan bahwa suatu contoh hanya dapat diartikan steril jika contoh tersebut seutuhnya bebas dari mikroba viabel pada benda tersebut. Bagaimanapun juga, definisi mutlak ini tidak dapat secara umum diterapkan pada seluruh bets bahan kompedia akhir, karena keterbatasan pengujian. Sterilitas mutlak tidak dapat ditunjukkan tanpa merusak tiap bahan akhir. Sterilitas suatu bets yang dianggap steril diartikan sebagai suatu kemungkinan, sehingga dapat dikesampingkan adanya satuan atau contoh yang mungkin tercemar. Keadaan jaminan sterilitas tersebut diatas hanya dapat dicapai dengan melakukan siklus sterilisasi yang memadai dan diikuti oleh proses aseptik jika ada, mengikuti cara produksi yang baik yang berlaku, dan tidak hanya mengandalkan uji sterilitas. Prinsip dasar untuk validasi dan sertifikasi suatu proses sterilisasi dijabarkan sebagai berikut:

1. Pastikan bahwa peralatan yang digunakan mampu berfungsi dan memenuhi parameter yang dipersyaratkan.
2. Tunjukkan bahwa peralatan pengendali kritis dan instrumentasi mampu berfungsi sesuai dengan parameter yang seharusnya bagi peralatan bersangkutan.
3. Lakukan siklus replikasi yang mewakili rentang operasional yang dipersyaratkan bagi peralatan bersangkutan dan gunakan produk sebenarnya atau simulasi. Tunjukkan bahwa proses telah dilaksanakan sesuai batasan protokol yang ditetapkan, dan akhirnya kemungkinan mikroba yang masih hidup pada proses replikasi yang telah selesai tidak lebih besar dari batasan yang ditetapkan.
4. Pantau proses yang divalidasi selama pekerjaan berjalan. Jika perlu, secara periodik peralatan dikalibrasi dan disertifikasi ulang.

5. Lengkapi protokol lengkap, dan dokumentasikan langkah diatas mulai nomor 1 hingga nomor 4.

Prinsip dan pelaksanaan program validasi proses prosedur proses aseptik adalah sama seperti validasi proses sterilisasi. Pada proses aseptik, komponen dari bentuk sediaan akhir disterilkan secara terpisah dan produk akhir dicampur secara aseptik.

Validasi yang sesuai pada proses sterilisasi atau pada proses aseptik memerlukan tingkat pengetahuan yang tinggi pada bidang teknologi sterilisasi dan ruang bersih. Agar dapat memenuhi batasan parameter sterilisasi yang berlaku dan dapat diterima serta dapat dicapai, perlu menggunakan peralatan dan perlengkapan yang sesuai untuk pengendalian parameter kritis seperti suhu dan waktu, kelembaban, kadar gas pensteril, atau radiasi yang diserap. Aspek yang penting dalam program validasi dalam berbagai prosedur sterilisasi meliputi penggunaan indikator biologik seperti tertera pada *Indikator Biologik untuk Sterilisasi* <1321>. Proses yang telah divalidasi dan disertifikasi harus divalidasi ulang secara berkala, tetapi program validasi ulang tidak perlu seluas program awal.

Program validasi khusus, seperti diuraikan di bawah ini, dirancang untuk otoklaf, tetapi prinsipnya dapat berlaku untuk prosedur sterilisasi lainnya yang akan dibahas pada bagian informasi ini. Program meliputi beberapa tahap, yaitu:

*Tahapan kualifikasi instalasi* Tahap ini ditujukan untuk menjaga agar alat kendali dan alat lainnya dirancang dan dikalibrasi dengan tepat. Dokumentasi harus disimpan dalam berkas, yang menunjukkan kualitas peralatan dari hal-hal yang dibutuhkan, seperti uap air, air, dan udara.

*Tahap kualifikasi operasional* Tahap ini ditujukan untuk memastikan fungsi bejana kosong dalam parameter suhu pada semua lokasi ruang utama yang tertera dalam protokol. Biasanya diperlukan untuk membuat rekaman tentang profil peningkatan panas, yaitu suhu simultan di dalam ruang otoklaf yang dilengkapi dengan sensor suhu ganda. Rentang suhu khas dalam bejana kosong yang dapat diterima adalah lebih kurang 1°, jika suhu dalam bejana tidak kurang dari 121°.

*Tahap konfirmasi* Tahap ini dalam program validasi merupakan sterilisasi dari bahan. Penetapan ini memerlukan penggunaan alat sensor suhu yang dimasukkan ke dalam contoh bahan, dan juga ke dalam contoh yang sebelumnya sudah dicemari mikroba uji dengan kadar yang sesuai, atau indikator biologik terpisah dalam konfigurasi otoklaf yang terisi penuh dan siap operasional. Efektivitas penyebaran atau penetrasi panas ke dalam bahan aktual dan waktu pemaparan merupakan dua faktor utama yang menentukan daya mematikan dalam proses sterilisasi.

*Tahap akhir* Tahap akhir program validasi memerlukan dokumentasi data penunjang yang dikembangkan untuk pelaksanaan program.

Secara umum dapat diterima bahwa bahan steril yang dapat disuntikkan atau alat tertentu yang harus steril, jika diproses dalam otoklaf, mencapai suatu probabilitas  $10^{-6}$  mikroba yang bertahan hidup, yaitu suatu jaminan yang menyatakan bahwa terdapat kemungkinan kurang dari

1 dalam 1 juta mikroba viabel dalam bahan atau sediaan yang telah disterilkan. Terhadap bahan tahan panas, sering dilakukan sterilisasi melebihi waktu kritis yang diperlukan untuk mencapai  $10^{-6}$  mikroba yang bertahan hidup (lewat musnah). Bagaimanapun juga, untuk bahan yang rusak bila terpapar panas berlebihan, penerapan pendekatan lewat musnah ini tidak tepat. Untuk hal ini, pengembangan siklus sterilisasi sangat tergantung pada diketahuinya beban mikroba produk, berdasarkan atas pengujian mencangkup jangka waktu yang sesuai terhadap sejumlah tertentu bens produk yang sebelum telah disterilkan.

Nilai D adalah adalah waktu (dalam menit) yang diperlukan untuk mengurangi populasi mikroba sejumlah 90% atau 1 log siklus ( $1/10$  bagian yang hidup) pada suhu tertentu. Jadi bila nilai D suatu indikator biologik, umpamanya spora *Bacillus stearothermophilus* adalah 1,5 menit pada parameter proses total, misalnya pada suhu  $121^{\circ}$ , jika perlakuan dilakukan selama 12 menit pada kondisi yang sama, maka dapat dinyatakan bahwa masukan letal adalah 8 D. Efek penggunaan masukan ini bagi produk tergantung pada bahan mikroba awal. Andaikata resistensi terhadap sterilisasi setara dengan indikator biologik, jika beban mikroba produk bersangkutan adalah  $10^2$ , maka masukan letal seharga 2 D akan menghasilkan suatu beban mikroba sebesar 1 ( $10^0$  teoritis), dan harga 6 D selanjutnya akan menghasilkan probabilitas  $10^{-6}$  mikroba hidup terhitung. (Pada kondisi yang sama, suatu masukan letal 12 D dapat digunakan pada pendekatan lewat musnah khusus). Pada umumnya probabilitas mikroba hidup yang dicapai untuk bahan pada siklus sterilisasi yang validasi tidak seluruhnya berhubungan dengan yang mungkin terjadi pada indikator biologik. Jadi untuk penerapan validasi adalah penting bahwa resistensi indikator biologik lebih besar daripada beban mikroba alami yang terdapat di dalam bahan yang disterilkan. Untuk itu perlu dibuat suatu asumsi keadaan terburuk dan menganggap beban mikroba seakan-akan resistensinya terhadap panas setara dengan indikator biologik, walaupun sulit diterima bahwa isolat beban mikroba khas yang paling resisten akan menunjukkan suatu resistensi terhadap panas sebesar yang ditunjukkan oleh spesies ini, sering kali digunakan sebagai indikator biologik untuk sterilisasi uap. Pada contoh diatas, suatu siklus 12 menit dapat dianggap cukup untuk sterilisasi jika produk bersangkutan memiliki beban mikroba  $10^2$ . Walaupun demikian, jika indikator pada awalnya mengandung  $10^6$  mikroba, pada hakekatnya dapat diperkirakan suatu probabilitas  $10^2$  mikroba hidup; yaitu 1 dari 100 indikator biologik dapat menghasilkan hasil positif. Situasi seperti ini dapat dihindari dengan memilih indikator biologik yang sesuai. Sebagai alternatif dapat digunakan indikator yang mengandung mikroba dalam jumlah yang tinggi, berdasarkan suatu pengurangan bilangan yang dapat diterima pada penetapan awal.

Nilai D untuk sediaan *Bacillus stearothermophilus* yang ditetapkan atau diverifikasi untuk kondisi ini harus ditetapkan ulang jika suatu program validasi tertentu diganti. Penetapan kurva yang hidup (seperti tertera pada *Indikator Biologik untuk Sterilisasi* <1321>), ataupun

yang disebut dengan pendekatan siklus berfraksi dapat digunakan untuk menetapkan nilai D indikator biologik yang diinginkan untuk prosedur sterilisasi tertentu. Pendekatan siklus berfraksi dapat juga digunakan untuk mengevaluasi resistensi dari beban mikroba. Siklus berfraksi dapat dikaji baik untuk pengurangan angka mikroba maupun untuk pencapaian fraksi negatif. Angka ini dapat digunakan untuk menetapkan letalitas proses pada kondisi produksi yang memenuhi syarat untuk menetapkan siklus sterilisasi yang sesuai. Indikator biologik yang sesuai seperti sediaan *Bacillus stearothermophilus* dapat digunakan selama sterilisasi rutin. Tiap metode beban mikroba untuk jaminan sterilitas memerlukan pengamatan yang cukup terhadap resistensi mikroba dari bahan untuk menemukan tiap perubahan, sebagai tambahan pada pengamatan berkala dari ketetapan lainnya.

## CARA STERILISASI

Pada bab ini akan dikemukakan 5 cara sterilisasi akhir, termasuk cara pemisahan mikroba melalui penyingkapan dan pedoman untuk proses aseptik. Perkembangan teknologi modern menuntut adanya prosedur tambahan, antara lain termasuk embus bentuk (pada suhu tinggi), bentuk panas basah selain dari uap jenuh dan iradiasi ultraviolet, serta pengisian berkesinambungan pada proses aseptik. Pemilihan proses yang sesuai untuk suatu bentuk sediaan atau komponen memerlukan pengetahuan yang tinggi tentang teknik sterilisasi dan informasi yang berkenaan dengan tiap efek dari proses pada bahan yang sedang disterilkan.

## STERILISASI UAP

Proses sterilisasi termal menggunakan uap jenuh di bawah tekanan berlangsung di suatu bejana yang disebut otoklaf, dan mungkin merupakan suatu proses sterilisasi yang paling banyak digunakan (suatu siklus otoklaf yang ditetapkan dalam farmakope untuk media atau pereaksi adalah selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}$  kecuali dinyatakan lain). Prinsip dasar kerja alat adalah udara di dalam bejana sterilisasi digantikan dengan uap jenuh, dan hal ini dicapai dengan menggunakan alat pembuka atau penutup khusus. Untuk mengganti udara secara lebih efektif dari bejana sterilisasi dan dari bahan yang disterilisasi, siklus sterilisasi dapat meliputi tahap evakuasi udara dan uap. Rancangan atau pemilihan suatu siklus untuk produk atau komponen tertentu tergantung pada beberapa faktor, termasuk ketakstabilan panas bahan pengetahuan tentang penetrasi panas ke dalam bahan, dan faktor lain yang tercantum dalam program validasi. Selain gambaran tentang parameter siklus sterilisasi dengan menggunakan suhu  $121^{\circ}$ , konsep  $F_0$  dapat juga diterapkan,  $F_0$  pada suhu tertentu selain suhu  $121^{\circ}$ , adalah waktu (dalam menit) yang diperlukan untuk mendapatkan kesetaraan letalitas seperti pada suhu  $121^{\circ}$  untuk waktu tertentu. Otoklaf modern umumnya bekerja dengan sebuah sistem pengendali yang secara nyata lebih responsif daripada katup reduksi jenis lama yang selama

ini digunakan. Agar jenis yang lama ini dapat mencapai ketepatan dan tingkat pengendalian siklus yang dibicarakan disini, mungkin perlu memperbaharui atau memodifikasi alat pengendali dan instrumentasi alat tersebut. Modifikasi ini dapat dibenarkan hanya jika alat sterilisasi dan mantel uap masih utuh demi keamanan penggunaa selanjutnya dan jika endapan yang dapat mengganggu distribusi panas dapat dihilangkan

#### STERILISASI PANAS KERING

Proses sterilisasi termal untuk bahan yang tertera di Farmakope dengan menggunakan panas kering biasanya dilakukan dengan suatu proses betts di dalam suatu oven yang dirancang khusus untuk tujuan itu. Oven modern dilengkapi dengan udara yang dipanaskan dan disaring, didistribusikan secara merata ke seluruh bejana dengan cara sirkulasi atau radiasi menggunakan sistem semprotan dengan peralatan sensor, pemantau dan pengendali parameter kritis. Validasi sterilisasi panas kering dilakukan dengan cara yang sama seperti sterilisasi uap. Unit yang digunakan untuk sterilisasi komponen seperti wadah untuk larutan intravena, harus dijaga agar dapat dihindari akumulasi partikel di dalam bejana sterilisasi. Rentang suhu khas yang dapat diterima di dalam bejana sterilisasi kosong adalah lebih kurang 15°, jika alat sterilisasi beroperasi pada suhu lebih kurang 250°.

Sebagai tambahan pada proses betts tersebut diatas, suatu proses berkesinambungan sering digunakan untuk sterilisasi dan alat kaca sebagai suatu bagian dari sistem pengisian dan penutupan kedap secara aseptik yang berkesinambungan dan terpadu. Distribusi panas dapat berupa sirkulasi atau disalurkan langsung dari suatu nyala terbuka. Sistem berkesinambungan biasanya memerlukan suhu yang lebih tinggi dari yang tertera di atas untuk proses betts karena waktu menetapnya yang lebih singkat. Bagaimanapun juga masukan suhu total selama melewati produk harus sama dengan yang dicapai sewaktu proses dalam bejana. Proses berkesinambungan biasanya memerlukan tahap pendinginan cepat sebelum berlangsung proses pengisian aseptik. Pada program kualifikasi dan validasi, sehubungan dengan waktu menetap singkat, perlu ditetapkan parameter untuk keseragaman suhu, terutama waktu menetap.

Suatu probabilitas mikroba hidup sejumlah  $10^{-12}$  dianggap dapat dicapai untuk bahan atau komponen tahan panas. Contoh suatu indikator biologik untuk validasi dan pemantauan sterilisasi panas kering adalah sediaan spora *Bacillus subtilis*. Karena panas kering sering digunakan untuk menjadikan alat kaca atau wadah bebas pirogen dan mikroba viabel; jika diperlukan, suatu ujiantang pirogen harus merupakan suatu bagian integral pada program validasi, umpamanya dengan menginokulasi satu atau lebih bahan dengan 1000 unit bakteri endotoksin FI atau lebih. Pengujian menggunakan *Limulus Lisat* dapat digunakan untuk menunjukkan bahwa bahan endotoksik sudah diinaktivasi hingga tidak lebih dari 1/1000 dari jumlah awal (reduksi 3 log siklus). Agar pengujian dianggap absah, baik jumlah awal, maupun sesudah

inaktivasi yang dapat diterima, jumlah dari sisa endotoksin harus diukur. Informasi lebih lanjut mengenai penetapan endotoksin, tertera pada *Uji Endotoksin Bakteri* <201>.

#### STERILISASI GAS

Pilihan untuk menggunakan sterilisasi gas sebagai alternatif dari sterilisasi termal sering dilakukan jika bahan yang akan disterilisasi tidak tahan terhadap suhu panas pada proses sterilisasi uap atau panas kering. Bahan aktif yang umumnya digunakan pada sterilisasi gas adalah etilen oksida dengan kualitas mensterilkan yang dapat diterima. Keburukan dari bahan aktif ini antara lain sifatnya yang sangat mudah terbakar, walaupun sudah dicampur dengan gas inert yang sesuai; bersifat mutagenik, dan kemungkinan adanya residu toksik di dalam bahan yang disterilkan, terutama yang mengandung ion klorida. Proses sterilisasi pada umumnya berlangsung di dalam bejana bertekanan yang dirancang sama seperti otoklaf, tetapi dengan tambahan bagian khusus yang hanya terdapat pada alat sterilisasi yang menggunakan gas. Fasilitas yang menggunakan bahan sterilisasi seperti ini harus dirancang sedemikian rupa hingga mampu mengeluarkan gas sesudah proses sterilisasi, mampu untuk memantau mikroba yang masih hidup, dan mengurangi paparan gas yang sangat berbahaya terhadap petugas yang menangani alat tersebut.

Kualifikasi proses sterilisasi menggunakan gas etilen oksida dicapai sesuai dengan uraian sebelumnya. Bagaimanapun juga program tersebut lebih luas cakupannya daripada cara sterilisasi lainnya, karena selain suhu, tekanan positif atau hampa udara juga diperlukan pengendalian tetap terhadap kadar etilen oksida. Suatu ketentuan penting adalah menunjukkan bahwa semua parameter proses kritis dalam bejana sterilisasi harus cukup selama berlangsungnya seluruh siklus. Karena parameter sterilisasi yang digunakan bagi bahan yang akan disterilkan merupakan variabel kritis, sering dianjurkan untuk melakukan prakondisi muatan sampai mencapai kadar kelembaban yang diperlukan, mengurangi waktu yang diperlukan pada suhu yang ditentukan, sebelum muatan dimasukkan ke dalam bejana sterilisasi etilen oksida. Proses validasi umumnya dilakukan menggunakan produk yang telah diinokulasikan dengan indikator biologik yang sesuai, seperti sediaan spora *Bacillus subtilis*. Untuk validasi, spora dapat digunakan dalam bejana sterilisasi yang terisi penuh dengan produk atau produk simulasinya. Pemantauan kelembaban dan kadar gas memerlukan penggunaan alat yang canggih, dan hanya individu yang terdidik dan berpengalaman yang dapat mengkalibrasi, menggunakan dan memeliharanya. Indikator biologik dapat juga digunakan pada pemantauan langkah-langkah secara rutin.

Seperti yang telah diuraikan di atas, indikator biologik dapat digunakan pada cara fraksi negatif untuk menetapkan probabilitas tertinggi mikroba hidup untuk merancang suatu siklus sterilisasi etilen oksida

menggunakan produk yang diinokulasi atau produk simulasi yang diinokulasi.

Salah satu keterbatasan utama dari proses sterilisasi etilen oksida adalah terbatasnya kemampuan gas tersebut untuk berdifusi sampai ke daerah yang paling dalam dari produk yang disterilkan. Jadi rancangan kemasan dan cara pengisian bejana sterilisasi harus ditetapkan sedemikian rupa hingga terdapat resistensi minimal terhadap difusi gas.

## STERILISASI DENGAN RADIASI ION

Perkembangan yang pesat alat kesehatan yang tidak tahan terhadap sterilisasi panas dan kekhawatiran tentang keamanan etilen oksida mengakibatkan peningkatan penggunaan sterilisasi radiasi. Tetapi cara ini dapat digunakan pada bahan obat dan bentuk sediaan akhir. Keunggulan sterilisasi iradiasi meliputi reaktivitas kimia rendah, residu rendah yang dapat diukur, dan kenyataan yang membuktikan bahwa variabel yang dikendalikan lebih sedikit. Kenyataannya sterilisasi radiasi adalah suatu kekhususan dalam dasar pengendalian yang penting adalah dosis radiasi yang diserap, dan dapat diukur secara tepat. Oleh karena sifat khas tersebut, banyak prosedur baru yang telah dikembangkan untuk menetapkan dosis sterilisasi. Walaupun begitu, hal ini masih dalam peninjauan dan pertimbangan, terutama mengenai kegunaannya, paling tidak, untuk pengendalian tambahan dan tindakan keamanan. Iradiasi hanya menimbulkan sedikit kenaikan suhu, tetapi dapat mempengaruhi kualitas dan jenis plastik atau kaca tertentu.

Ada 2 jenis radiasi ion yang digunakan, yaitu disintegrasi radioaktif dari radioisotop (radiasi gamma) dan radiasi berkas elektron. Pada kedua jenis tersebut, dosis radiasi yang dapat menghasilkan derajat jaminan sterilitas yang diperlukan harus ditetapkan sedemikian rupa hingga dalam rentang satuan dosis minimum dan maksimum, sifat bahan yang disterilkan dapat di terima.

Untuk iradiasi gamma, validasi prosedur meliputi penetapan kesesuaian bahan, kesesuaian cara memasukkan produk dan penyelesaian penataan jumlah produk di dalam wadah sterilisasi (termasuk identifikasi zona dosis minimum dan maksimum), penetapan pengaturan waktu, dan petunjuk pemberian dosis sterilisasi yang diperlukan. Untuk iradiasi berkas elektron, sebagai tambahan, perlu divalidasi pengendalian voltase, arus listrik, kecepatan ban berjalan, dan dimensi pengamat berkas elektron.

Untuk sterilisasi radiasi gamma, harus dipilih dosis sterilisasi yang efektif dan dapat ditoleransi tanpa menimbulkan kerusakan. Walaupun berdasarkan pengalaman dipilih dosis 2,5 megarad ( Mrad ) radiasi yang diserap, tetapi dalam beberapa hal, diinginkan dan dapat diterima menggunakan dosis yang lebih rendah untuk peralatan, bahan obat dan bentuk sediaan akhir. Dalam hal lain mungkin diperlukan dosis yang lebih tinggi. Untuk validasi efikasi, terutama tingkat paparan yang rendah, penting untuk menetapkan besar (jumlah dan atau derajat) resistensi radiasi alami dari populasi mikroba produk. Model pengisian produk yang khusus

harus dibuat dan ditetapkan distribusi dosis serapan maksimum dan minimum menggunakan dosimeter kimia (Dosimeter ini umumnya merupakan plastik silinder, pipih atau segiempat berwarna yang menunjukkan intensifikasi warna berdasarkan langsung pada jumlah energi radiasi yang di serap; alat ini harus dikalibrasi dengan saksama). Penetapan dosis serapan yang diperlukan dilakukan berdasarkan biakan murni mikroba resisten dan menggunakan produk yang telah diinokulasi, misalnya spora dari *Bacillus pumilus* sebagai indikator biologik. Siklus eksperimen berfraksi memberikan data yang dapat digunakan untuk menetapkan nilai  $D_{10}$  dari indikator biologik. Informasi ini dapat diterapkan untuk ekstrapolasi jumlah radiasi yang diserap untuk menetapkan suatu probabilitas yang sesuai tentang mikroba yang masih bertahan hidup. Prosedur yang terbaru untuk sterilisasi radiasi gamma berdasarkan pada dosis terhadap resistensi radiasi dari beban mikroba heterogen alami, dalam produk yang disterilkan. Prosedur tersebut sedang dikembangkan, tetapi dapat merupakan penilaian yang lebih mewakili di bidang resistensi radiasi, terutama jika terdapat jumlah mikroba yang signifikan tahan radiasi. Rentang ini, mulai dari mikroba resisten baku, seperti *Bacillus pumilus* hingga pemaparan dosis sub-letal contoh produk jadi yang diambil dari proses produksi. Beberapa hipotesis tertentu adalah umum terhadap semua metode ini. Walau jumlah populasi yang terdapat di dalam suatu bahan mikroba umumnya terdiri dari campuran mikroba yang memiliki sensitivitas yang berbeda terhadap radiasi, langkah memperlakukan bahan ini dengan suatu dosis yang lebih rendah dari jumlah dosis sterilisasi letal akan menghilangkan fraksi mikroba yang kurang resisten. Ini akan menghasilkan populasi residu yang relatif homogen sehubungan dengan resistensi radiasi, dan menghasilkan suatu hasil penetapan yang konsisten dan mempunyai keberulangan dari penetapan populasi yang tersisa. Jumlah pengujian laboratorium yang diperlukan tergantung pada prosedur tertentu yang digunakan.

Satu dari cara tersebut memerlukan penghitungan populasi mikroba dari contoh yang mewakili betas bahan yang diproduksi secara terpisah. Resistensi populasi mikroba tidak di tetapkan dan penentuan dosis didasarkan kepada arbitrase resistensi radiasi baku yang ditetapkan untuk populasi mikroba, dan dari data yang diterima dari produsen dan pustaka. Perkiraan kemudian dibuat bahwa distribusi pilihan resistensi menunjukkan suatu tantangan yang lebih hebat daripada populasi mikroba alami di dalam produk yang akan disterilkan. Perkiraan ini, bagaimanapun juga harus diverifikasi dengan percobaan. Setelah verifikasi, dosis sterilisasi radiasi yang sesuai dapat dilihat dalam suatu tabel.

Metoda lain, yang dibuat lebih rinci, tidak memerlukan penghitungan populasi mikroba, tetapi menggunakan satu seri paparan dosis meningkat untuk mendapatkan suatu dosis yang ditetapkan sedemikian rupa hingga lebih kurang 1 dari 100 contoh yang diiradiasi pada dosis tersebut tidak steril. Ini bukanlah dosis sterilisasi tertinggi, tetapi sebagai dasar untuk menetapkan dosis sterilisasi dengan ekstrapolasi dari dosis yang

menghasilkan 1 dari 100 contoh yang tidak steril, dengan menggunakan faktor resisten yang sesuai dan mencerminkan populasi mikroba resisten yang tersisa. Pengawasan berkala dilakukan untuk memeriksa bahwa temuan dapat terus dilanjutkan.

Prosedur yang lebih rinci, memerlukan lebih banyak percobaan dan meliputi isolasi biakan mikroba, termasuk satu percobaan setelah penetapan dosis substerilisasi (yang menghasilkan 1 dari 100 contoh yang tidak steril), resistensi mikroba yang bertahan hidup digunakan untuk menetapkan dosis sterilisasi. Cara lain dibuat berdasarkan pada penetapan yang berbeda, dimulai dengan peningkatan dosis substerilisasi yang menghasilkan tidak lebih dari 50% contoh yang tidak steril. Setelah iradiasi jumlah secukupnya pada contoh ini, diperoleh beberapa isolat mikroba. Resistensi radiasi dari setiap prosedur ditetapkan. Dosis sterilisasi kemudian dihitung menggunakan penetapan resistensi dan dosis sterilisasi 50% yang semula telah ditetapkan. Prosedur pengawasan diperlukan untuk metode ini seperti untuk metode lain.

Jika dosis radiasi minimum yang diperlukan telah ditetapkan dan pemberian dosis tersebut telah dipastikan (dengan dosimeter kimia atau fisika), pelepasan bahan yang telah disterilkan dapat diperkuat dengan validasi menyeluruh jaminan sterilitas yang meliputi antara lain kepastian dosis yang digunakan, penggunaan indikator biologik dan lainnya.

#### STERILISASI DENGAN PENYARINGAN

Sterilisasi larutan yang labil terhadap panas sering dilakukan penyaringan menggunakan bahan yang dapat menahan mikroba, hingga mikroba yang dikandung dapat dipisahkan secara fisika. Perangkat penyaring umumnya terdiri dari suatu matriks berpori bertutup kedap atau dirangkaikan pada wadah yang tidak permeabel. Efektivitas suatu penyaring media atau penyaring substrat tergantung pada ukuran pori bahan dan dapat terganggu pada daya adsorpsi bakteri pada atau di dalam matriks penyaring atau tergantung pada mekanisme penganyakan. Ada beberapa bukti yang menyatakan bahwa penganyakan merupakan komponen yang lebih penting dari mekanisme. Penyaring yang melepas serat, terutama yang mengandung asbes, harus dihindarkan penggunaannya kecuali tidak ada penyaringan alternatif lain yang mungkin digunakan. Jika penyaring yang melepas serat memang diperlukan, merupakan keharusan, bahwa proses penyaringan meliputi adanya penyaring yang melepas serat diletakkan pada arah hilir atau sesudah langkah penyaringan awal.

*Ukuran penyaring* Pengukuran porisitas membran penyaring dilakukan dengan pengukuran nominal yang menggambarkan kemampuan membran penyaring untuk menahan mikroba dari galur tertentu dengan ukuran yang sesuai, bukan dengan penetapan suatu ukuran rata-rata pori dan pernyataan tentang distribusi ukuran. Membran penyaring untuk sterilitas (yang digunakan untuk memisahkan sebagian besar kontaminan mikroba) adalah membran yang mampu menahan 100% biakan dari  $10^7$  mikroba galur *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146)

tiap  $\text{cm}^2$  permukaan membran pada tekanan tidak kurang dari 30 psi (2,0 bar). Membran penyaring semacam itu berukuran nominal  $0,22 \mu\text{m}$  atau  $0,2 \mu\text{m}$ , tergantung pada cara pembuatan produsen. Pengukuran membran penyaring dapat juga ditentukan untuk pereaksi atau media yang harus disterilkan dengan cara penyaringan (lihat perlakuan terhadap *Isopropil Miristat* pada *Salep dan Minyak yang Larut pada Isopropil Miristat* yang tertera pada Uji Sterilitas <71>). Membran penyaring bakteri (juga dikenal sebagai membran penyaring analitik), yang hanya mampu menahan mikroba berukuran lebih besar, diberi etiket dengan nominal  $0,45 \mu\text{m}$ . Tidak satupun cara pengukuran penyaring  $0,45 \mu\text{m}$  yang ditetapkan badan berwenang, dan pengukuran tergantung kepada cara konvensional dari produsen; penyaring  $0,45 \mu\text{m}$  mampu menahan biakan tertentu, seperti *Serratia marcescens* (ATCC 14756) atau *Pseudomonas diminuta*. Tekanan uji yang digunakan beraneka ragam, mulai dari yang rendah (5 psi, 0,33 bar untuk *Serratia* atau 0,5 psi, 0,34 bar untuk *Pseudomonas diminuta*) hingga yang tinggi (50 psi, 3,4 bar). Membran ini digunakan untuk uji sterilitas (menurut *Prosedur* seperti tertera pada *Uji Menggunakan Penyaringan Membran* dalam *Uji Sterilitas* <71>), yang tidak memerlukan resistensi mikroba yang sempurna. Kecil kemungkinan untuk melakukan pengujian contoh yang tercemar hanya oleh mikroba ukuran kecil. Membran penyaring berukuran nominal yang sangat kecil dapat di uji dengan biakan *Acholeplasma laidlawii* atau galur lain *Mycoplasma* pada tekanan 7 psi (0,7 bar) dan akan berukuran nominal  $0,1 \mu\text{m}$ . Pengukuran nominal yang didasarkan pada sifat retensi mikroba berbeda jika pengukuran dilakukan dengan cara lain, umpamanya dengan pengukuran retensi lingkaran lateks dengan berbagai diameter. Merupakan tanggung jawab pengguna untuk memilih suatu penyaring dengan ukuran yang tepat untuk tujuan tertentu, tergantung kepada sifat produk yang akan disaring. Umumnya tidak layak untuk mengulang uji kapasitas penyaringan di tempat pengguna. Uji tentang mikroba lebih baik dilakukan pada kondisi produsen terhadap tiap jenis membran penyaring yang diproduksinya.

Pemakai harus menetapkan parameter penyaringan yang digunakan dalam pembuatan yang mempengaruhi efisiensi retensi mikroba secara bermakna. Beberapa hal penting lain yang perlu diperhatikan pada validasi proses penyaringan, meliputi kemampuan kompatibilitas produk, penyerapan obat, pengawet dan atau zat tambahan lainnya, dan pengeluaran awal kandungan endoksin.

Karena efektivitas proses penyaringan juga dipengaruhi oleh beban mikroba larutan yang akan disaring, penetapan kualitas larutan sebelum penyaringan merupakan aspek penting validasi proses penyaringan sebagai tambahan pada penetapan parameter lain dari prosedur penyaringan, seperti tekanan, laju alir dan karakteristik unit penyaring. Cara lain untuk menguraikan kemampuan penahanan penyaring adalah menggunakan log nilai reduksi (LNR). Umpamanya, suatu penyaring berukuran  $0,2 \mu\text{m}$  yang dapat menahan  $10^7$  mikroba galur

## PROSES ASEPTIK

tertentu akan memiliki LNR tidak kurang dari 7, pada kondisi yang telah ditetapkan.

Proses sterilisasi larutan dengan cara penyaringan, pada akhir-akhir ini telah menghasilkan tingkat kepuasan yang baru, sebagian besar merupakan hasil perkembangan dan kemajuan teknologi penyaringan membran. Kelompok media penyaringan ini menjurus ke arah pengendalian pembakuan dan mutu yang lebih efektif dan juga memberikan kesempatan yang lebih luas pada pengguna untuk memastikan karakteristik atau sifat rakitan penyaringan sebelum dan sesudah penggunaan. Kenyataan bahwa penyaringan adalah lapisan tipis polimer memberikan banyak keuntungan, tetapi juga memberikan beberapa kerugian jika dibandingkan dengan penyaringan yang tebal seperti penyaringan dari bahan porselen atau bahan masir. Karena banyak dari permukaan membran adalah suatu ruangan yang kosong atau ruang terbuka, maka penyaringan yang cukup baik dirakit dan disterilisasi akan memberikan suatu keuntungan berupa laju aliran yang tinggi. Kerugian karena membran umumnya rapuh, sehingga penting untuk menetapkan bahwa rakitan sudah cukup baik dan membran tidak akan rusak atau pecah selama perakitan, sterilisasi atau selama penggunaan. Rakitan wadah dan penyaringan yang digunakan pertamanya harus divalidasi terhadap kompatibilitas dan integritas oleh pengguna. Jika terbuka kemungkinan untuk mencampur rakitan dan membran penyaringan yang diproduksi berbagai produsen, maka kompatibilitas dari rakitan gabungan ini harus lebih dahulu divalidasi. Disamping itu, terdapat beberapa uji yang harus dilakukan oleh produsen penyaringan membran yang pada umumnya tidak diulang lagi oleh pengguna, meliputi uji tentang mikrobiologi. Hasil uji terhadap tiap betas membran penyaringan yang diproduksi harus diperoleh dari produsen, dan didokumentasikan oleh pengguna.

Penyaringan untuk tujuan stabilisasi umumnya dilaksanakan menggunakan rakitan yang memiliki membran dengan porositas nominal. Ukuran minimal pori-pori sebesar  $0,2 \mu\text{m}$  atau kurang, berdasarkan pada perbandingan yang telah divalidasi tidak kurang dari  $10^7$  suspensi *Pseudomonas diminuta* (ATCC No. 19146) per  $\text{cm}^2$  dari luas permukaan penyaringan. Media membran penyaringan yang tersedia saat ini yaitu selulosa asetat, selulosa nitrat, fluorokarbonat, polimer akrilik, polikarbonat, poliester, polivinil klorida, vinil, nilon, politef, dan juga membran logam, dan ini dapat diperkuat atau ditunjang oleh bahan berserat internal. Rakitan penyaringan membran harus diuji untuk integritas awal sebelum digunakan, dengan ketentuan bahwa uji tersebut tidak mengurangi validitas sistem uji, dan harus diuji sesudah proses penyaringan selesai, untuk menunjukkan bahwa rakitan penyaringan mempertahankan integritas sepanjang prosedur penyaringan berlangsung. Uji penggunaan khusus adalah uji titik gelembung, uji aliran udara difusif, uji penahanan tekanan, dan uji aliran ke depan. Selama uji harus dikaitkan dengan retensi mikroba.

Ada pendapat umum yang mengatakan bahwa sterilisasi wadah akhir terisi sebagai suatu bentuk sediaan atau alat terkemas akhir adalah proses yang dipilih untuk menjamin resiko terkecil kontaminasi mikroba dalam betas, terdapat suatu kelompok besar produk yang tidak disterilisasi akhir, tetapi disiapkan melalui tahapan aseptik. Proses ini dirancang untuk mencegah masuknya mikroba hidup ke dalam komponen steril atau komponen yang melewati proses antara yang mengakibatkan produk setengah jadi atau produk ruahan atau komponennya bebas dari mikroba hidup. Bagian ini mengemukakan suatu kajian ulang tentang prinsip produk yang diproses secara aseptik dengan resiko minimal terjadinya kontaminasi mikroba di dalam betas produk jadi dari bentuk sediaan akhir.

Suatu produk yang dianggap diproses secara aseptik dapat saja terdiri dari komponen yang sebelumnya telah disterilkan dengan salah satu proses yang telah diuraikan. Misalnya, produk setengah jadi, jika berupa cairan yang telah disaring, dapat disterilkan dengan cara penyaringan. Komponen wadah akhir kosong dapat disterilkan dengan panas, panas kering digunakan untuk sterilisasi vial kaca, dan otoklaf untuk penutup karet. Daerah kritis yang perlu diperhatikan adalah lingkungan bermikroba tempat komponen yang sebelumnya telah disterilkan terkontaminasi selama perakitan untuk memproduksi bentuk sediaan jadi, dan selama pengisian secara aseptik.

Persyaratan untuk fasilitas pengisian atau proses aseptik lainnya yang dirancang, divalidasi dan dipelihara dengan benar, terutama ditujukan pada (i) Lingkungan udara yang bebas mikroba viabel yang dirancang dengan benar untuk memungkinkan pemeliharaan yang efektif dari unit alat pemasok udara (ii) Tersedianya tenaga pekerja terlatih, yang dilengkapi dan mengenakan pakaian kerja yang memadai. Lingkungan yang diinginkan dapat dicapai melalui teknologi penyaringan udara tingkat tinggi yang pada saat itu mudah diperoleh, dan yang berperan memasok udara berkualitas mikrobiologi yang diperlukan. Fasilitas meliputi sistem sawar primer (di dekat tempat bahan terpapar) dan sekunder (tempat proses aseptik berlangsung).

Untuk fasilitas proses aseptik atau lingkungan tempat pengisian aseptik yang dirancang dengan baik, berikan perhatian untuk bagian yang penting, seperti permukaan yang tidak berpori dan licin, termasuk dinding dan langit-langit hingga dapat secara berkala disanitasi; tempat ganti pakaian kerja dengan ruangan yang cukup memadai untuk pekerja dan untuk menyimpan pakaian steril; pemisahan yang memadai antara ruangan persiapan bagi pekerja dan ruangan proses aseptik akhir, jika perlu tersedia perlengkapan tertentu seperti ruang tertutup kedap udara dan atau penyemprotan udara; perbedaan tekanan yang sesuai antar ruangan, tekanan yang paling positif adalah di ruangan atau lingkungan proses aseptik; penggunaan ruang bersih (satu arah) di tempat yang paling dekat dengan produk atau komponen yang terpapar dan aliran udara tersaring ke tempat tersebut, dengan frekuensi pergantian udara yang cukup; kelembaban yang sesuai dan pengendalian suhu lingkungan; dan suatu program sanitasi yang terdokumentasi. Pelatihan yang

sesuai bagi pekerja dalam teknik higiene dan cara berpakaian harus ditekankan sedemikian rupa hingga kakaiian kerja, sarung tangan, dan penutup tubuh lainnya terutama harus dapat menutupi secara sempurna permukaan kulit yang terpapar.

Sertifikasi dan validasi proses aseptik dan fasilitas dapat dicapai dengan penentuan efisiensi sistem penyaringan, dengan menggunakan prosedur pemantauan lingkungan secara mikrobiologi, dan membuat media biakan steril sebagai produk simulasi.

Pemantauan fasilitas aseptik harus meliputi pemeriksaan penyaringan udara lingkungan secara berkala sebagaimana juga pemantauan berkala terhadap partikulat dan mikroba lingkungan, dan dapat meliputi proses pembuatan media biakan steril secara berkala.

### Uji Sterilitas dari Bets

Harus diakui bahwa uji sterilitas penentu mungkin tidak dapat mendeteksi kontaminasi mikroba jika terdapat dalam presentase kecil dari bahan jadi dalam bets, karena jumlah satuan tertentu yang diambil memberikan keterbatasan statistik yang signifikan pada penggunaan hasil pengujian. Bagaimanapun juga kenyataan keterbatasan ini harus dapat diterima karena pengetahuan sekarang ini tidak memberikan alternatif yang tidak merusak untuk menetapkan kualitas mikrobiologi dari tiap bahan jadi dalam bets, dan merupakan pilihan yang tidak layak untuk meningkatkan jumlah contoh secara signifikan.

Tujuan utama dalam menunjang tuntutan bahwa suatu bets bahan jadi yang harus steril memenuhi spesifikasi yang terdiri dari dokumentasi produksi aktual dan rekaman sterilisasi suatu bets, dan rekaman validasi sebagai tambahan yang menyatakan bahwa proses sterilisasi memiliki kemampuan untuk menginaktifkan secara total beban mikroba yang terdapat pada produk jadi atau suatu tantangan yang lebih resisten. Selanjutnya, harus ditunjukkan bahwa tiap langkah proses yang melibatkan produk terpapar sesudah proses sterilisasi harus dilakukan secara aseptik untuk mencegah kontaminasi. Jika data berasal dari pengkajian validasi proses jaminan sterilitas produsen dan dari data pengendalian dalam proses yang telah dinyatakan dapat memberikan jaminan yang lebih menyakinkan bahwa bets tersebut memenuhi kemungkinan yang kecil untuk mengandung unit terkontaminasi yang dikehendaki (bandingkan dengan hasil uji sterilitas dari satuan akhir yang diambil dari bets bersangkutan), maka tiap prosedur uji sterilitas yang diadopsi mungkin minimal, atau tidak diperlukan secara rutin. Bagaimanapun, anggapan bahwa semua kriteria produksi yang tersebut di atas dipenuhi, masih diperlukan uji sterilitas terhadap contoh dari bets bahan jadi. Uji sterilitas tersebut umumnya dilakukan segera setelah bets tersebut diproduksi sebagai suatu uji pengendalian kualitas produk akhir.

Uji sterilitas yang dilakukan dengan cara ini dalam rangka pengendalian produksi tidak boleh disalahartikan dengan yang tertera pada *Uji Sterilitas <71>*. Cara yang rinci bisa saja sama, seperti pada media, inokula dan

penanganan contoh, tetapi jumlah satuan dan/atau waktu inkubasi yang dipilih dapat berbeda. Jumlah contoh yang dipilih harus sebanding dengan tujuan yang diinginkan, umpamanya sehubungan dengan jumlah yang dikemukakan lebih atau kurang disesuaikan dengan uji sterilitas dalam konteks dari semua perlakuan untuk jaminan sterilitas pada produsen. Juga, perpanjangan waktu inkubasi dapat membuat pengujian menjadi lebih sensitif untuk mikroba yang lambat tumbuh. Dalam uji sterilitas media, mikroba lambat tumbuh tersebut, terutama jika diisolasi dari beban mikroba dari produk, harus disertakan dengan uji pewarnaan lain. Hasil uji sterilitas yang negatif atau yang memuaskan, hanya berguna sebagai penunjang lanjutan bagi kenyataan yang berhubungan dengan kualitas dari bets; jika semua rekaman produksi dalam keadaan yang teratur yang berhubungan erat dengan bets yang ada, maka proses sterilisasi atau aseptik jelas efektif. Bagaimanapun, hasil uji yang tidak memuaskan, dalam pengendalian kualitas produksi, menunjukkan suatu pertanda diperlukannya langkah selanjutnya (seperti tertera pada *Kinerja, Pengamatan dan Penafsiran Hasil*).

### DEFINISI BETS DAN SELEKSI CONTOH UNTUK UJI STERILITAS

Bahan dapat disterilisasi akhir baik di dalam suatu bejana maupun melalui suatu proses berkesinambungan. Pada proses dalam bejana sejumlah bahan disterilisasi secara bersamaan pada kondisi terkendali, misalnya, dalam suatu otoklaf, sehingga untuk tujuan uji sterilitas, bets tersebut dianggap sebagai isi dari suatu bejana tunggal. Pada proses berkesinambungan, bahan disterilkan secara tersendiri dan berurutan, misalnya, dengan memberikan radiasi berkas elektron, sehingga bets dianggap tidak lebih besar dari jumlah keseluruhan contoh serupa seperti ditunjukkan pada sterilisasi yang seragam selama jangka waktu tidak lebih dari 24 jam.

Pada pengisian secara aseptik, istilah pelaksanaan pengisian dimaksudkan suatu kelompok wadah akhir, dalam segala hal adalah identik, yang telah diisi secara aseptik dengan produk yang sama dari bahan setengah jadi dalam periode waktu tidak lebih dari 24 jam berurutan tanpa berhenti atau penggantian yang dapat mempengaruhi integritas rakitan pengisian. Contoh yang diuji harus dapat mewakili tiap rakitan pengisian dan harus diseleksi pada selang waktu yang sesuai secara menyeluruh pada semua pelaksanaan pengisian. Jika lebih dari tiga mesin pengisi, setiap mesin memiliki tempat pengisian tunggal atau ganda, digunakan untuk pengisian bets tunggal, minimum 20 wadah terisi (tidak kurang dari 10 per media), harus diuji untuk tiap mesin pengisi, tetapi yang diperlukan umumnya jumlah total tidak perlu melebihi 100 wadah.

Untuk bets kecil, dalam hal pengisian aseptik atau sterilisasi akhir, jika jumlah wadah akhir dalam bets antara 20 dan 200, umumnya lebih kurang 10% dari wadah harus diuji. Jika jumlah akhir dalam bets adalah 20 atau kurang, tidak kurang dari dua wadah akhir harus diuji.

### Kinerja, Pengamatan dan Penafsiran Hasil

Fasilitas untuk uji sterilitas harus diusahakan sedemikian rupa hingga tidak memberikan mikrobaantang yang lebih besar dari bahan yang diuji jika dibandingkan oleh seorang yang memiliki keahlian tinggi dibidang teknik aseptik. Rekaman kinerja uji dari penguji ini harus didokumentasi.

Penanganan aseptik ekstensif yang diperlukan untuk pelaksanaan uji sterilitas dapat menghasilkan probabilitas kontaminasi yang tidak berkaitan dengan produk yang dinyatakan dengan  $10^{-3}$ , suatu tingkat yang sama dengan efisiensi pelaksanaan aseptik secara menyeluruh dan dapat dibandingkan dengan probabilitas mikroba hidup dari bahan yang diproses secara aseptik. Tingkat probabilitas ini secara signifikan lebih besar dari yang umum berlaku bagi proses sterilisasi akhir, yaitu 1 dalam sejuta atau  $10^{-6}$  probabilitas mikroba hidup. Sebaiknya, bahan jadi yang diketahui steril harus secara berkala diperlakukan sebagai kontrol negatif, sebagai alat kendali prosedur uji yang dapat dipercaya. Sebaiknya teknisi yang melaksanakan pengujian harus tidak mengetahui bahwa mereka melakukan uji kontrol negatif. Dari uji ini diinginkan suatu hasil positif palsu secara berkala tidak melebihi 2%.

Untuk bahan yang diproses secara aseptik, fakta ini mendukung penggunaan secara rutin uji yang tertera pada *Uji Sterilitas <71>* atau yang lebih rinci. Dokumentasi produksi dan validasi harus lengkap dan dapat diterima. Bagaimanapun juga untuk produk yang mengalami sterilisasi akhir secara efektif, probabilitas mikroba hidup lebih rendah dapat menuntun penggunaan uji yang kurang ekstensif daripada prosedur yang ditetapkan pada *Uji Sterilitas <71>*, atau bahkan dapat menghindari keharusan untuk melaksanakan salah satunya. Tambahan jaminan sterilitas dari sterilisasi akhir yang dapat dipercaya tergantung pada proses sterilisasi yang divalidasi dan didokumentasi secara baik. Uji sterilisasi sendiri tidak dapat diganti.

**Penafsiran hasil uji pengawasan mutu** Tanggung jawab menyeluruh untuk melakukan satuan uji dan penafsiran hasil uji berkaitan dengan diterima atau ditolaknya suatu bets harus berada di tangan petugas yang telah mendapat latihan formal yang sesuai di bidang mikrobiologi dan memiliki pengetahuan di bidang sterilisasi industri, proses aseptik dan konsep statistik pengambilan contoh. Petugas seperti ini harus juga menguasai masalah program pengawasan lingkungan dalam fasilitas uji untuk menjamin agar kualitas mikrobiologi udara dan permukaan kerja kritis dapat diterima secara konsisten.

Uji sterilitas pengawasan mutu (baik yang sesuai dengan uji penentu yang resmi maupun uji yang dimodifikasi) dapat dilakukan dengan dua tahap terpisah sedemikian rupa hingga meniadakan hasil positif palsu.

*Tahap pertama* Dengan mengabaikan rencana pengambilan contoh yang digunakan, jika tidak terbukti adanya pertumbuhan mikroba, hasil uji dapat digunakan

sebagai petunjuk tidak adanya kontaminasi intrinsik dari bets bersangkutan.

Jika terdapat pertumbuhan mikroba, lanjutkan pada *Tahap kedua*.

*Tahap kedua* Jika terjadi pertumbuhan mikroba, lakukan uji *Tahap kedua* (kecuali jika uji *Tahap pertama* dinyatakan tidak absah). Bukti yang menyatakan bahwa uji *Tahap pertama* tidak absah hingga mengulanginya sebagai suatu uji *Tahap pertama* dapat diperoleh dari pengkajian catatan uji lingkungan dan catatan yang relevan. Penemuan pertumbuhan mikroba pada kontrol negatif tidak perlu dipertimbangkan sebagai dasar satu-satunya untuk menyatakan uji *Tahap pertama* tidak absah. Jika melakukan uji *Tahap kedua*, terutama jika tergantung dari hasil uji untuk pelepasan bets, mulai dan dokumentasikan suatu kajian menyeluruh dari semua rekaman produksi dan pengawasan yang berlaku secara bersamaan. Pada pengkajian ini perlu diberikan perhatian kepada hal berikut:

(1) Pemeriksaan rekaman pemantauan siklus sterilisasi yang divalidasi yang diterapkan pada produk.

(2) Riwayat uji sterilitas yang berhubungan dengan produk tertentu, baik untuk contoh jadi dan masih dalam proses maupun rekaman sterilisasi alat penunjang, wadah, penutup dan komponen steril, jika ada.

(3) Data pengawasan lingkungan, termasuk yang diperoleh dari pengisian media, lempeng yang terpapar, data penyaringan, tiap rekaman sanitasi dan data pemantauan mikroba dari pekerja, pakaian kerja, sarung tangan dan cara berpakaian.

Jika tidak berhasil menelusuri dan pengkajian tersebut di atas, maka gambaran mikroba produk yang berlaku harus diperiksa menggunakan gambaran riwayat adanya kemungkinan perubahan. Rekaman harus diperiksa secara bersamaan untuk tiap perubahan dalam sumber komponen produk dan/atau prosedur proses yang sedang berlangsung yang mungkin ikut berperan. Tergantung kepada temuan, dan dalam hal yang ekstrim, perlu diberikan pertimbangan untuk revalidasi seluruh proses pembuatan. Pada *Tahap kedua* tidak mungkin untuk menentukan jumlah tertentu contoh yang diuji. Biasanya adalah mengambil jumlah contoh sebanyak dua kali dari *Tahap pertama* pada uji sterilitas, atau jumlah lain yang layak. Volume minimum yang diuji dari tiap contoh, media dan masa inkubasi sama seperti tertera pada *Tahap pertama*.

Jika tidak terdapat pertumbuhan pada *Tahap kedua*, dan dokumen pengkajian dari rekaman yang sesuai dan pemeriksaan produk yang bersangkutan tidak menunjang kemungkinan kontaminasi intrinsik, bets dapat dinyatakan memenuhi persyaratan *Uji sterilitas <71>*. Jika terdapat pertumbuhan, bets bersangkutan tidak memenuhi persyaratan uji. Seperti yang dinyatakan pada uji *Tahap pertama*, uji *Tahap kedua* dapat dinyatakan tidak absah dengan bukti yang cukup, dan jika terjadi, ulangi seperti *Tahap kedua*.



## VALIDASI PROSEDUR DALAM FARMAKOPE <1381>

Prosedur pengujian yang digunakan untuk menilai tingkat mutu bahan dan sediaan farmasi yang terdapat dalam farmakope memerlukan berbagai persyaratan.

Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB) terkini mempersyaratkan metode yang digunakan untuk menilai kesesuaian mutu bahan dan sediaan farmasi terhadap spesifikasi yang telah ditetapkan harus telah dibuktikan akurasi dan reliabilitasnya.

Pengguna metode-metode analitik yang tertera dalam farmakope tidak dipersyaratkan untuk memvalidasi akurasi dan reliabilitas tetapi cukup memverifikasi kesesuaiannya pada kondisi nyata penggunaannya. Sesuai dengan status legal farmakope, maka prosedur baru yang akan diajukan untuk adopsi atau revisi prosedur yang sudah ada harus didukung oleh data laboratorium yang memadai.

### PENYERAHAN KE PANITIA FARMAKOPE

Penyerahan prosedur analisis baru atau yang direvisi kepada Panitia Farmakope harus disertai dengan informasi yang cukup untuk dapat dievaluasi. Secara umum, evaluasi meliputi penilaian kejelasan dan kelengkapan uraian prosedur analisis, penetapan kebutuhan akan prosedur, dan bukti terdokumentasi terhadap validasi yang telah dilakukan. Informasi dapat beragam, tergantung pada jenis metode yang digunakan. Namun pada umumnya informasi mencakup hal-hal berikut:

**Dasar pemikiran** Bagian ini harus mencantumkan kebutuhan prosedur dan uraian kemampuan prosedur khusus yang diusulkan dan alasan pemilihan prosedur ini dibandingkan prosedur lain. Untuk prosedur yang direvisi harus disertai dengan perbandingan yang menunjukkan kelemahan prosedur yang masih berlaku dan keunggulan yang dimiliki oleh prosedur yang diusulkan.

**Prosedur analisis yang diusulkan** Pada bagian ini, prosedur analisis harus diuraikan secara lengkap dan rinci sehingga personal terlatih mampu melakukan replikasi pengujian yang sama. Uraian prosedur harus meliputi semua parameter operasional yang penting dan instruksi khusus seperti penyiapan pereaksi, pelaksanaan uji kesesuaian sistem, uraian blangko yang digunakan, peringatan, dan formula yang jelas untuk perhitungan hasil pengujian.

**Unsur data** Bagian ini harus berisi dokumen yang lengkap dan menyeluruh dari kajian validasi prosedur analisis. Termasuk didalamnya rangkuman data pengujian dan perhitungan yang mendukung setiap karakteristik kinerja analisis yang digunakan.

Karakteristik kinerja analisis yang dimaksud akan diuraikan pada bab berikut.

**Validasi** Validasi suatu prosedur analisis adalah proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Jenis karakteristik kinerja analitik yang diuraikan dalam dokumen ini dapat dilihat dalam *Tabel 1*. Karena pandangan dan pengertian akan terminologi sering berbeda, maka masing-masing karakteristik kinerja analitik akan diuraikan dan didefinisikan secara khusus dalam bab berikutnya.

**Tabel 1**  
**Karakteristik kinerja analitik yang digunakan dalam validasi metode**

Akurasi
Presisi
Spesifisitas
Batas Deteksi
Batas Kuantitasi
Linearitas
Rentang
Ketegaran

**Revalidasi** Revalidasi perlu dilakukan dalam kasus berikut: penyerahan prosedur analisis yang direvisi kepada Panitia Farmakope, atau penggunaan suatu prosedur umum yang telah ditetapkan pada produk baru atau bahan baku baru.

Menurut dokumen "*International Conference on Harmonization*" (ICH) revalidasi perlu dilakukan jika terjadi : perubahan dalam sintesis senyawa obat, perubahan dalam komposisi sediaan farmasi, dan perubahan dalam prosedur analisis.

### Karakteristik Analitik

**AKURASI** suatu prosedur analisis adalah tingkat kedekatan antara hasil pengujian dengan prosedur yang sedang divalidasi terhadap nilai yang benar. Akurasi prosedur analisis harus ditetapkan meliputi rentang nilai benar tersebut.

**Penetapan** Dalam kasus pengujian senyawa obat, akurasi ditetapkan dengan penerapan prosedur analisis tersebut pada analit yang diketahui kemurniannya (misalnya bahan pembanding) atau dengan perbandingan hasil analisis dengan prosedur lain yang telah ditetapkan akurasinya.

Dalam kasus pengujian senyawa obat dalam produk formulasi, akurasi dapat ditetapkan dengan penerapan prosedur tersebut pada campuran sintetik komponen sediaan farmasi yang ke dalamnya telah ditambahkan sejumlah analit dalam suatu rentang kadar tertentu. Jika hal tersebut tidak dimungkinkan untuk memperoleh semua komponen sediaan farmasi tersebut, maka akurasi ditetapkan dengan menetapkan kadar analit yang

ditambahkan dan diketahui jumlahnya ke dalam sediaan farmasi atau membandingkan hasil penetapan dengan suatu prosedur yang telah diketahui akurasi.

Dalam hal analisis kuantitatif cemaran, akurasi ditetapkan terhadap sampel (senyawa obat atau sediaan farmasi) yang telah ditambahkan sejumlah tertentu cemaran. Jika cemaran atau produk degradasi tidak mungkin diperoleh, maka akurasi ditetapkan dengan membandingkan hasil analisis terhadap hasil pengujian prosedur lain yang telah diakui. Jika tidak ada informasi lain, dimungkinkan untuk menghitung jumlah cemaran berdasarkan perbandingan respons dengan respons senyawa obat. Rasio antara respons sejumlah sama cemaran dengan senyawa obat (faktor respons relatif) dapat digunakan jika telah diketahui.

Akurasi dihitung sebagai persentase perolehan kembali dari penetapan sejumlah analit yang ditambahkan dan diketahui jumlahnya kedalam sampel, atau sebagai selisih antara hasil rata-rata dengan hasil benar yang diterima bersama dengan batas kepercayaannya.

Dokumen ICH merekomendasikan bahwa akurasi ditetapkan dengan menggunakan minimal 9 penetapan meliputi 3 tingkat konsentrasi berbeda yang telah ditetapkan (misalnya 3 konsentrasi dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi).

Penilaian akurasi dapat dilakukan dengan berbagai cara, termasuk menilai persen perolehan kembali dari berbagai rentang pengujian, atau menilai linearitas hubungan antara konsentrasi yang dihitung terhadap konsentrasi sebenarnya. Arah garis lurus hubungan tersebut harus sekitar 1,0 atau mendekati 1,0. Dalam kasus lain, interval kedekatan harus ditetapkan terlebih dahulu dalam protokol validasi. Kriteria penerimaan akurasi sangat tergantung kepada jenis pengujian dan keragaman serta sediaan yang diuji.

**PRESISI** prosedur analisis adalah tingkat kedekatan diantara hasil uji individu bila prosedur diterapkan berulang kali terhadap sampling ganda atau sampel yang homogen. Presisi biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) dari satu seri pengukuran. Presisi merupakan ukuran tingkat reproduktibilitas atau repetabilitas prosedur analisis dalam kondisi kerja normal. Dalam kaitan ini reproduktibilitas mengacu pada penggunaan prosedur analisis di beberapa laboratorium yang berbeda. Presisi antara (dikenal juga sebagai "ruggedness"), menyatakan keragaman dalam laboratorium yang dilakukan pada hari yang berbeda atau oleh analis yang berbeda atau peralatan yang berbeda di laboratorium yang sama. Repetabilitas mengacu pada penggunaan prosedur analisis dalam laboratorium yang sama dalam periode waktu yang singkat oleh analis yang sama dengan peralatan yang sama.

**Penetapan** Presisi prosedur analisis ditetapkan dengan menentukan kadar sejumlah memadai dari larutan sampel homogen beberapa kali, sehingga hasil pengujian dapat dihitung secara statistik perkiraan yang sah dari simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Penetapan kadar dalam kaitan ini adalah analisis bebas terhadap sampel yang dilakukan secara lengkap

mulai dari penyiapan sampel hingga diperoleh hasil akhir pengujian.

Dokumen ICH merekomendasikan bahwa repetabilitas ditentukan dengan menggunakan minimal 9 penetapan meliputi suatu rentang konsentrasi khusus untuk prosedur (misalnya 3 konsentrasi dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi, atau minimal 6 penetapan pada konsentrasi uji 100%)

**SPESIFISITAS** Dokumen ICH mendefinisikan spesifisitas sebagai kemampuan menguji secara tepat suatu analit dengan adanya komponen lain dan diperkirakan ada sebagai cemaran, hasil degradasi, dan matriks sampel. Ketiadaan spesifisitas dari prosedur analisis dapat diatasi dengan penggunaan prosedur analitik pendukung. [*Catatan Beberapa organisasi internasional menggunakan istilah selektivitas untuk menggantikan spesifisitas.*] Untuk menjelaskan definisi di atas dapat digunakan implikasi berikut:

*Uji identifikasi* Prosedur harus menjamin identitas analit.

*Uji kemurnian* Prosedur harus menjamin dalam penetapan akurat kandungan cemaran dalam analit (seperti senyawa sejenis, batas logam berat, cemaran organik mudah menguap).

*Penetapan kadar* Prosedur harus menjamin dan memberikan pernyataan akurat pada kadar atau potensi analit dalam sampel.

**Penetapan** Dalam kasus analisis kualitatif (uji identifikasi) maka prosedur harus menunjukkan kemampuan untuk memilih antara senyawa-senyawa yang berkaitan erat dengan strukturnya. Ini dapat dikonfirmasi dengan memperoleh hasil positif dari sampel yang mengandung analit dibandingkan dengan hasil negatif dari sampel yang tidak mengandung analit, dan dikonfirmasi bahwa hasil positif tersebut tidak diperoleh dari bahan-bahan yang berstruktur sama atau berdekatan dengan analit.

Dalam kasus prosedur untuk cemaran, spesifisitas dilakukan dengan menetapkan sejumlah tertentu cemaran yang ditambahkan pada senyawa obat atau sediaan farmasi, dan hasilnya menunjukkan cemaran tersebut ditetapkan dengan akurasi dan presisi yang memadai.

Dalam kasus penetapan kadar, spesifisitas dapat ditunjukkan dengan tidak adanya pengaruh cemaran atau eksipien pada prosedur. Pada prakteknya, hal ini dapat dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah cemaran atau eksipien pada senyawa obat atau sediaan dan hasil penetapan kadar tidak dipengaruhi oleh adanya bahan-bahan dari luar tersebut.

Jika baku cemaran atau hasil urai tidak tersedia, maka spesifisitas ditunjukkan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cemaran atau hasil urai terhadap hasil prosedur lain yang sudah divalidasi. Perbandingan hasil analisis meliputi juga sampel yang disimpan pada kondisi perlakuan yang relevan (misalnya pengaruh cahaya, panas, lembab, hidrolisis asam/basa, dan oksidasi). Dalam kasus uji kemurnian kromatografi, maka profil cemaran harus dibandingkan.

Dokumen ICH menyatakan jika digunakan prosedur kromatografi, maka kromatogram harus disertakan untuk menunjukkan derajat selektivitasnya, dan puncak harus diberi tanda. Uji kemurnian puncak (dengan "Diode Array" atau Spektrometri Massa) dapat digunakan untuk menunjukkan bahwa puncak kromatogram analit tidak mengandung komponen lain

**BATAS DETEKSI** adalah karakteristik uji batas. Ini merupakan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dideteksi, tetapi tidak perlu kuantitatif dalam kondisi percobaan yang ditentukan. Uji batas semata-mata menunjang bahwa konsentrasi analit di bawah atau di atas aras tertentu. Batas deteksi umumnya dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen, bpj, bpm) dalam sampel.

**Penetapan** Untuk prosedur non-instrumental, batas deteksi umumnya ditetapkan dengan analisis sampel yang mengandung analit dalam kadar yang diketahui dan menentukan kadar analit terendah yang dapat dideteksi dengan baik.

Untuk prosedur instrumental, pendekatan yang sama dapat digunakan dengan prosedur non-instrumental. Dalam kasus prosedur yang diserahkan untuk dipertimbangkan sebagai prosedur farmakope resmi, semuanya tidak pernah ditentukan batas deteksinya secara tepat. Batas deteksi cukup ditunjukkan rendah dengan analisis sampel yang mengandung kadar analit di atas atau di bawah batas deteksi yang dipersyaratkan.

Dalam kasus prosedur analisis instrumental yang menunjukkan adanya gangguan latar belakang, dokumen ICH menguraikan pendekatan umum dengan membandingkan hasil pengukuran "signal" dari sampel dengan konsentrasi analit rendah yang diketahui dengan "signal" sampel blangko. Konsentrasi minimum analit yang masih dapat dideteksi dapat ditentukan pada perbandingan "signal to noise" 2:1 atau 3:1. Pendekatan lain tergantung pada penetapan arah garis kurva kalibrasi dan standar deviasi respons. Selanjutnya batas deteksi dapat divalidasi dengan menganalisis sejumlah sampel yang diketahui kadarnya mendekati atau dipersiapkan pada batas deteksinya.

**BATAS KUANTITASI** adalah karakteristik penetapan kuantitatif pada aras rendah dari senyawa dalam matriks sampel, seperti cemaran dalam senyawa obat ruahan dan hasil degradasi dalam sediaan farmasi akhir. Batas kuantitasi adalah konsentrasi terendah dari analit dalam sampel yang ditetapkan dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima dalam kondisi percobaan yang telah ditetapkan. Batas kuantitasi dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen, bpj, bpm) dalam sampel.

**Penetapan** Untuk metode non-instrumental, batas kuantitasi umumnya ditetapkan dengan melakukan analisis sampel yang mengandung analit dalam jumlah yang diketahui dan menetapkan kadar terendah analit yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima.

Untuk prosedur instrumental, pendekatan yang sama dapat digunakan seperti pada prosedur non-instrumental. Dalam kasus prosedur yang diserahkan untuk dipertimbangkan sebagai prosedur resmi, tidak perlu menentukan batas kuantitasi. Biasanya batas kuantitasi ditetapkan dengan menganalisis sampel dengan konsentrasi analit di atas atau di bawah aras kuantitasinya.

Dalam kasus prosedur analisis instrumental yang menunjukkan adanya gangguan latar belakang, dokumen ICH menguraikan pendekatan umum dengan membandingkan hasil pengukuran "signal" dari sampel yang mengandung analit kadar rendah dengan hasil pengukuran "signal" sampel blangko. Konsentrasi minimum analit dapat ditentukan pada perbandingan "signal to noise" 10:1. Pendekatan lain tergantung pada penentuan arah garis kurva kalibrasi dan standar deviasi dari respons. Selanjutnya batas kuantitasi divalidasi dengan analisis terhadap sejumlah sampel yang mengandung analit mendekati atau dipersiapkan mengandung analit pada batas kuantitasinya.

## LINEARITAS DAN RENTANG

**Linearitas** adalah kemampuannya untuk menunjukkan hasil uji yang secara langsung atau dengan melalui transformasi matematik yang tepat proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel dalam rentang yang diberikan. Dalam kaitan ini linearitas mengacu pada hubungan linear antara konsentrasi dan hasil pengukuran pengujian. Dalam beberapa kasus, untuk mencapai linearitas, konsentrasi atau hasil pengukuran dapat ditransformasi dalam bentuklogaritma, akar kuadrat, resiprokal, atau bentuk transformasi lainnya. Jika linearitas tidak dicapai, maka hubungan non-linear dapat digunakan.

**Rentang** adalah interval antara batas tertinggi dan batas terendah dari kadar analit yang telah dibuktikan, dapat ditentukan dengan presisi, akurasi dan linearitas yang sesuai menggunakan prosedur analisis yang ditetapkan. Rentang umumnya dinyatakan dalam satuan yang sama dengan hasil uji (misalnya persen, bpj, bpm) yang diperoleh dengan prosedur analisis ini.

**Penetapan** Linearitas dapat ditentukan sepanjang rentang prosedur analisis. Awalnya linearitas digambarkan secara visual antara "signal" sebagai fungsi dari konsentrasi analit. Jika terlihat ada hubungan yang linear, hasil uji dapat ditentukan dengan metode statistik yang memadai (misalnya dengan perhitungan garis regresi kuadrat terkecil). Data dari garis regresi dapat membantu untuk menunjukkan perkiraan derajat linearitas, seperti koefisien korelasi, perpotongan sumbu y, arah garis regresi dan jumlah kuadrat residu garis regresi yang dapat diterima. Rentang prosedur divalidasi dengan membuktikan bahwa prosedur analisis memberikan presisi, akurasi dan linearitas yang dapat diterima ketika diterapkan pada sampel yang mengandung analit pada konsentrasi ekstrim yang berada pada rentang.

ICH merekomendasikan bahwa linearitas ditetapkan dengan menggunakan minimal 5 konsentrasi yang digunakan secara normal. Dan juga direkomendasikan rentang minimum yang digunakan sebagai berikut:

*Penetapan kadar senyawa obat (atau sediaan farmasi akhir):* dari 80% hingga 120% dari konsentrasi uji.

*Penetapan cemaran:* dari 50% hingga 120% dari kriteria penerimaan.

*Untuk Keseragaman kandungan:* minimal 70% hingga 130% dari konsentrasi uji (sangat tergantung pada sifat alami bentuk sediaan).

*Untuk Uji Disolusi:*  $\pm 20\%$  dari rentang spesifik (misalnya pada sediaan pelepasan terkendali, setelah 1 jam 20%, dan setelah 24 jam lebih dari 90%, maka rentangnya dari 0% - 110% dari konsentrasi yang dinyatakan pada etiket).

**Ketegaran** adalah ukuran kemampuan prosedur untuk tetap bertahan dan tidak terpengaruh oleh keragaman kecil yang disengaja pada parameter prosedur yang terdapat dalam dokumen. Ketegaran dapat ditentukan pada waktu pengembangan prosedur analisis.

#### Kesesuaian Sistem

Jika pengukuran dapat dipengaruhi oleh keragaman kondisi analisis, maka perlu adanya pengawasan yang memadai atau pernyataan peringatan yang tertulis dalam prosedur. Salah satu konsekuensi dari pengujian ketegaran adalah parameter kesesuaian sistem yang perlu ditetapkan untuk menjamin validitas prosedur agar tetap bertahan selama digunakan. Keragaman yang umum adalah stabilitas larutan analisis, perbedaan peralatan, dan perbedaan analisis. Dalam hal kromatografi cair, keragaman yang umum adalah pH fase gerak, komposisi fase gerak, perbedaan lot kolom atau pemasok kolom, suhu dan laju alir fase gerak. Dalam hal kromatografi gas, variasi yang umum adalah perbedaan lot kolom atau pemasok kolom, suhu dan laju alir fase gerak.

Uji Kesesuaian Sistem berdasarkan pada konsep bahwa peralatan, elektronik, kerja analitik dan sampel merupakan satu sistem yang terpadu yang harus dievaluasi. Parameter kesesuaian sistem yang harus ditetapkan tergantung pada jenis prosedur yang akan dievaluasi. Kesesuaian sistem sangat penting dalam hal prosedur kromatografi. Penyerahan pada Panitia Farmakope hendaknya dilengkapi dengan persyaratan kesesuaian sistem seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

#### Unsur Data yang Diperlukan untuk Validasi

Persyaratan pengujian farmakope beragam, mulai dari penetapan analisis tingkat kepastian tinggi sampai evaluasi terhadap karakteristik. Setiap prosedur analisis yang berbeda memerlukan skema validasi yang berbeda. Bagian ini hanya mencakup kategori pengujian secara umum yang memsyaratkan data validasi. Kategori-kategori tersebut adalah sebagai berikut:

**Kategori I** Prosedur analisis untuk penetapan kadar komponen utama dalam bahan baku obat atau bahan aktif (termasuk pengawet) dalam sediaan obat jadi.

**Kategori II** Prosedur analisis untuk penetapan cemaran dalam bahan baku obat atau senyawa hasil degradasi dalam sediaan obat jadi. Prosedur ini terdiri dari penetapan kuantitatif dan uji batas.

**Kategori III** Prosedur analisis untuk penetapan karakteristik kinerja sediaan (misalnya disolusi, pelepasan obat).

**Kategori IV** Prosedur analisis untuk identifikasi.

Untuk setiap kategori diperlukan informasi analitik yang berbeda. *Tabel 2* mencantumkan unsur data yang diperlukan untuk setiap kategori.

**Tabel 2 Unsur data yang dibutuhkan untuk validasi prosedur analisis**

Karakteristik kinerja analitik	Kategori I	Kategori II		Kategori III	Kategori IV
		Kuantitatif	Uji batas		
Akurasi	Ya	Ya	*	*	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Spesifisitas	Ya	Ya	Ya	*	Ya
Batas Deteksi	Tidak	Tidak	Ya	*	Tidak
Batas Kuantitasi	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak
Linearitas	Ya	Ya	Tidak	*	Tidak
Rentang	Ya	Ya	*	*	Tidak

Catatan :

\* Mungkin dipersyaratkan tergantung pada sifat khusus dari uji

Prosedur umum yang sudah pasti (seperti penetapan kadar air secara titrimetri, penetapan endotoksin bakteri) harus diverifikasi untuk memastikan kesesuaian penggunaan, seperti akurasi (dan tidak ada pengaruh lain) jika digunakan untuk sediaan atau bahan baku baru. Validitas suatu prosedur analisis hanya dapat dibuktikan melalui kajian laboratorium. Oleh karena itu kelengkapan dokumentasi dari setiap pengujian merupakan suatu persyaratan dasar dalam menentukan kesesuaian prosedur itu dengan tujuan penggunaannya. Prosedur dalam farmakope harus menunjukkan hasil yang sesuai dalam kondisi nyata, oleh karena itu perlu dilakukan verifikasi.

## VERIFIKASI PROSEDUR DALAM FARMAKOPE <1382>

Bab ini bertujuan memberikan informasi mengenai verifikasi prosedur dalam farmakope yang dilakukan pertama kali untuk memperoleh hasil yang dapat diterima dengan menggunakan pengujian, peralatan dan pereaksi yang tersedia. Bab ini bukan untuk aplikasi retroaktif prosedur laboratorium yang sudah ada. Bab *Validasi Prosedur dalam Farmakope* <1381> memberikan informasi umum karakteristik yang harus dipertimbangkan untuk kategori uji yang beragam dan dokumentasi sebaiknya mengikuti prosedur analisis yang ada dalam farmakope. Verifikasi meliputi penilaian terhadap karakteristik yang dipilih seperti yang diuraikan dapat dikirimkan ke Panitia Farmakope bila disertai data yang sesuai, untuk mendukung usulan penambahan atau penggantian prosedur yang sedang berlaku.

**Persyaratan verifikasi** hendaknya didasarkan pada penilaian kompleksitas, baik pada prosedur maupun bahan pada saat prosedur diterapkan. Walaupun revalidasi prosedur farmakope secara lengkap tidak dipersyaratkan untuk memverifikasi metode yang sesuai dalam kondisi penggunaan, beberapa karakteristik pada *Tabel 2* bab *Validasi Prosedur dalam Farmakope* <1381> dapat digunakan untuk proses verifikasi. Hanya beberapa karakteristik yang digunakan untuk memverifikasi prosedur yang perlu dievaluasi. Tingkat kesulitan proses verifikasi tergantung pada tingkat kemahiran dan pengalaman pengguna, jenis prosedur dan alat yang digunakan, tahapan prosedur spesifik, dan sampel yang diuji.

Sebagai contoh, pengujian spesifisitas merupakan karakteristik kunci dalam melakukan verifikasi bahwa suatu prosedur farmakope dapat digunakan dalam penetapan kadar bahan obat dan sediaan. Misalnya, spesifisitas yang dapat diterima untuk suatu metode kromatografi dapat diverifikasi sesuai persyaratan resolusi dalam kesesuaian sistem (apabila dicantumkan dalam prosedur). Akan tetapi bahan baku obat dari pemasok yang berbeda mungkin akan mempunyai profil cemarannya yang berbeda yang tidak tercantum dalam prosedur farmakope. Demikian juga bahan baku zat tambahan dalam suatu sediaan dari pabrik yang berbeda dapat

pada bab *Validasi Prosedur dalam Farmakope* <1381>. Untuk menghasilkan kesesuaian, data yang relevan lebih baik daripada pengulangan proses validasi.

Pengguna prosedur analisis farmakope tidak perlu melakukan validasi prosedur untuk pertama kali digunakan di laboratorium, tetapi harus ada bukti terdokumentasi yang sesuai pada kondisi nyata yang digunakan.

Verifikasi prosedur mikrobiologi tidak termasuk dalam bab ini, karena telah tercantum dalam *Uji Efektivitas Pengawet Antimikroba* <61>, *Uji Batas Mikroba* <51>, dan *Uji Sterilitas* <71>.

## PROSES VERIFIKASI

Pengguna harus sudah mempunyai pengalaman, pengetahuan dan pelatihan yang cukup untuk dapat memahami dan melakukan prosedur analisis seperti yang tertulis. Verifikasi yang dilakukan oleh pengguna akan memberikan keyakinan bahwa prosedur farmakope telah sesuai dengan tujuannya.

Jika verifikasi prosedur farmakope tidak berhasil dan tidak ada pemecahan masalah ini, dapat disimpulkan bahwa prosedur yang digunakan tidak sesuai dengan sampel yang sedang diuji di laboratorium tersebut. Selanjutnya perlu dilakukan pengembangan dan validasi prosedur alternatif mengikuti ketentuan umum. Prosedur alternatif

sangat berbeda dan secara langsung dapat mempengaruhi prosedur atau menyebabkan pembentukan cemarannya yang prosedurnya tidak tercantum dalam farmakope. Disamping itu, sediaan yang mengandung zat tambahan, antioksidan, dapar atau cemarannya dari wadah dapat mempengaruhi prosedur farmakope. Dalam hal ini, pengujian spesifisitas yang lebih sempurna mungkin diperlukan untuk membuktikan kesesuaian prosedur terhadap bahan baku atau sediaan tertentu. Karakteristik analitik lainnya seperti batas deteksi atau batas kuantitasi dan presisi untuk prosedur cemarannya dapat digunakan untuk menunjukkan kesesuaian prosedur farmakope dengan kondisi sebenarnya.

Verifikasi tidak dipersyaratkan untuk prosedur pengujian farmakope baku yang dilakukan rutin kecuali ada indikasi bahwa prosedur farmakope tersebut tidak sesuai dengan bahan yang diuji. Contoh prosedur farmakope baku antara lain: susut pengeringan, sisa pemijaran, beberapa prosedur kimia seperti bilangan asam, dan metode instrumen sederhana misalnya pengukuran pH. Akan tetapi penggunaan prosedur yang sudah rutin digunakan pada pengujian bahan untuk pertama kali, perlu dilakukan verifikasi jika penanganan atau penyiapan larutannya berbeda.



# **PEREAKSI, INDIKATOR DAN LARUTAN**





## PEREAKSI, INDIKATOR DAN LARUTAN

Bagian ini membicarakan pereaksi dan larutan yang dibutuhkan untuk uji dan penetapan kadar dalam Farmakope.

Seperti dinyatakan dalam *Ketentuan Umum*, daftar pereaksi, indikator dan larutan dalam Farmakope tidak termasuk zat yang mempunyai kegunaan terapi; jadi dalam Farmakope dinyatakan dengan pereaksi atau mutu pereaksi.

Pereaksi, indikator dan larutan, pada umumnya dengan spesifikasi sesuai dengan penggunaannya. Kecuali zat yang dinyatakan dengan murni pereaksi; digunakan zat dengan mutu pereaksi yang tersedia dalam perdagangan. Kadang-kadang kata "untuk pengujian" dicantumkan di belakang kata pereaksi, hal ini menyatakan mutu yang sesuai untuk suatu pengujian. Daftar ini juga mencakup pereaksi yang dibutuhkan untuk menetapkan kualitas pereaksi lain. Untuk pereaksi yang tidak tercantum dalam daftar, spesifikasi tercantum dalam *Baku Pemandang*.

Untuk pengujian dan penetapan dalam Farmakope tidak perlu mutu analisa (pro analisa), cukup merujuk pada monografi yang tercantum dalam Farmakope. Dalam hal ini harus diartikan bahwa spesifikasi tersebut adalah persyaratan minimum dan zat dengan spesifikasi yang lebih murni dapat digunakan.

Nama pereaksi jika tidak tercantum dalam monografi merujuk pada daftar pereaksi ini.

Pereaksi dan larutan harus disimpan dalam wadah kaca atau bahan yang sesuai dan tertutup rapat. Petunjuk untuk penyimpanan dalam wadah tidak tembus cahaya harus diperhatikan.

Penutup wadah yang kontak dengan zat yang dapat merusak atau menembus permukaannya harus diberi lapisan film tipis atau pelicin, kecuali dilarang dalam spesifikasi. Jika suatu merek atau sumber dari suatu zat atau bagian dari alat atau nama dan alamat pabrik dinyatakan (biasanya dalam catatan kaki) hal ini hanya sebagai informasi untuk memudahkan, tidak mengikat.

Fotometri nyala dan serapan atom memerlukan beberapa larutan baku ion logam. Pada masing-masing monografi biasanya dilengkapi dengan cara pembuatan larutan ini, dapat juga digunakan larutan baku dan ion yang sesuai yang ada dalam perdagangan. Harus dilakukan konfirmasi bahwa larutan tersebut sesuai dengan data yang diberikan.

**Pereaksi** disingkat *P* adalah suatu zat yang digunakan sebagai pereaksi atau sebagai unsur pokok dari larutan.

**Indikator** adalah pereaksi yang digunakan untuk menyatakan titik akhir suatu reaksi kimia, untuk mengukur kadar ion hidrogen (pH) atau untuk menyatakan bahwa perubahan pH sudah terjadi. Ini terdapat dalam daftar indikator dan kertas uji.

**Larutan Dapar** Seperti tertera pada *Larutan Dapar*.

**Larutan Kolorimetrik** disingkat *LK* adalah larutan yang digunakan dalam pembuatan baku kolorimetri sebagai pembanding.

**Larutan Pereaksi** disingkat *LP* adalah larutan dari pereaksi dalam pelarut dan kadar tertentu yang sesuai untuk penggunaan tertentu.

**Larutan Volumetrik** disingkat *LV* adalah larutan suatu pereaksi dengan kadar diketahui dan dibakukan untuk digunakan terutama pada penetapan kuantitatif. Kadar biasanya dinyatakan dalam normalitas.

**Air** Jika dalam uji untuk pereaksi atau dalam petunjuk pembuatan larutan uji dan sebagainya digunakan *air* tanpa kualifikasi khusus selalu menggunakan *Air Murni* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V. *Air bebas karbondioksida* adalah *air murni* yang telah dididihkan kuat-kuat selama 5 menit atau lebih dan didiamkan sampai dingin dan tidak boleh menyerap karbon dioksida dari udara. *Air awaudara* adalah *air murni* yang sudah dikurangi udara terlarut dengan cara yang sesuai seperti dididihkan kuat-kuat selama 5 menit dan didinginkan atau dengan menggunakan penggetar ultrasonik.

**Pelarut kromatografi dan gas pembawa** Cara kromatografi dalam Farmakope mensyaratkan penggunaan pelarut atau gas yang sudah dimurnikan secara khusus sesuai dengan penggunaannya. Dengan tujuan (a) untuk menghilangkan cemaran yang mungkin mengganggu cara pengujian, atau (b) untuk memperpanjang umur kolom dengan mengurangi terbentuknya cemaran pada kolom. Jika disebut cairan atau gas untuk kromatografi harus digunakan cairan atau gas yang sesuai. Pelarut atau gas yang sesuai untuk kromatografi cair kinerja tinggi atau kromatografi lainnya tersedia sebagai produk khusus dari suatu produsen, walaupun tidak ada jaminan bahwa produk yang sama dari produsen lain sesuai dengan prosedur yang diberikan. Spesifikasi pereaksi untuk penggunaan analisis pada umumnya untuk pelarut dan gas tidak untuk penggunaan pada kromatografi, untuk ini perlu dilakukan pemurnian secara khusus.

## PEREAKSI

Untuk keperluan dari spesifikasi berikut, gunakan definisi:

*Blangko* mengandung pereaksi dengan kuantitas dan perlakuan yang sama seperti zat uji.

*Kontrol* adalah blangko yang ditambahi zat uji dengan jumlah tertentu atau larutan pembanding khusus yang dibuat seperti tertera pada pengujian tertentu.

Angka yang tertulis setelah simbol atau rumus kimia menyatakan bobot atom atau bobot molekul. Pembanding warna dan kekeruhan dibuat dalam tabung pembanding warna yang sebanding atau sedekat mungkin dalam hal diameter dalam dan hal-hal lain yang perlu, seperti dinyatakan dalam *Spektrofotometri dan*

*Hamburan Cahaya* <1191>. Tabung ini biasa disebut tabung Nessler.

Dalam melakukan perbandingan visual kekeruhan cairan, atasi pengaruh perbedaan warna, jika perlu, dengan melihat kekeruhan melalui kolom air, yang kedalamannya ditentukan oleh volume tertentu seperti yang dinyatakan pada spesifikasi masing-masing pereaksi. Masukkan air ke dalam tabung perbandingan warna dan letakkan satu tabung di atas tabung kontrol dan yang lain di bawah tabung larutan uji.

Jika dikatakan "sisihkan filtrat", dan tidak dinyatakan lain, berarti hasil pencucian residu tidak ditambahkan ke dalam filtrat.

Pada pengujian *kalsium*, *magnesium* dan *endapan*  $R_2O_3$ , pernyataan  $R_2O_3$  dimaksudkan untuk menyatakan sisa pemijaran dari endapan senyawa setelah penambahan amonium hidroksida, seperti pada  $Fe_2O_3$  dan  $Al_2O_3$ .

### UJI PEREAKSI

Metode pengujian umum berikut untuk menguji pereaksi dalam menetapkan apakah sesuai dengan spesifikasi dari pereaksi dan akan digunakan, kecuali dinyatakan lain dalam spesifikasi.

#### Jarak Destilasi atau Jarak Didih Pereaksi

Gunakan prosedur berikut untuk menetapkan jarak destilasi atau jarak didih pereaksi, kecuali dinyatakan lain dalam spesifikasi masing-masing.

ALAT Gunakan alat seperti pada *Penetapan Jarak Destilasi* <1011> *Metode I* kecuali labu destilasi 250 ml berleher pendek yang dihubungkan dengan pendingin menggunakan tabung penghubung bercabang tiga dengan penyambung yang diasah.

PROSEDUR Letakkan labu destilasi dengan posisi tegak di atas papan abses berlubang dan hubungkan dengan pendingin.

Ukur 100 ml cairan yang akan diuji dengan gelas ukur, masukkan ke dalam labu, tambahkan batu didih. Gunakan gelas ukur untuk menampung destilat, masukkan termometer, panaskan hingga laju destilasi antara 3 ml dan 5 ml per menit. Jika perlu lakukan percobaan pendahuluan untuk menentukan pemanasan yang sesuai. Baca termometer, jika telah terjadi 20 tetesan kemudian pada 5 ml, 10 ml, 40 ml, 50 ml, 60 ml, 90 ml, dan 95 ml. Lanjutkan destilasi sampai kering.

*Jarak destilasi* atau *jarak didih* berturut-turut adalah interval antara suhu-suhu jika hasil destilasi 1 ml dan 95 ml.

#### Arsen dalam Pereaksi

Untuk pengujian ini dipilih pereaksi dengan kandungan arsen rendah, sehingga pengujian blangko tidak menimbulkan Bercak atau tidak teramati.

ALAT Siapkan botol bermulut lebar 60 ml, pasang sumbat karet berlubang. Melalui lubang sumbat karet masukkan pipa dengan panjang total 12 cm dan bagian atas dengan diameter 1 cm (panjang 8 cm), bagian

bawah dengan diameter 5 mm (panjang 4 cm). Bagian pipa yang kecil sedikit tampak di bawah sumbat karet. Letakkan pasir yang telah dicuci atau kapas yang telah dimurnikan, pada bagian atas pipa lebih kurang 3 cm dari puncak pipa. Basahi kapas atau pasir dengan dengan *timbangan setat LP* dan bersihkan larutan yang melekat pada dinding pipa. Pada lubang atas pipa ini masukkan pipa kaca kedua sepanjang 12 cm dengan diameter dalam 2,5 mm sampai 3 mm dengan memakai sumbat karet yang berlubang. Sebelum melakukan pengujian, letakkan *kertas raksa (II) bromida P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator* dalam tabung ini, tahan kertas ini pada posisi lebih kurang dari 2 cm di atas sumbat karet. Bersihkan dan keringkan pipa setiap setelah dipakai.

LARUTAN BAKU ARSEN Gunakan *Larutan baku* seperti tertera pada *Uji Batas Arsen* <321>.

LARUTAN UJI Tambahkan 1 ml *asam sulfat P* ke dalam 5 ml larutan zat (1 dalam 25) kecuali dinyatakan lain pada masing-masing spesifikasi pereaksi. Abaikan penambahan ini jika menetapkan asam anorganik. Kecuali dinyatakan khusus, tambahkan 10 ml *asam sulfat P*. Uapkan cairan pada gelas piala kecil di atas tangas uap sampai bebas dari asam sulfat, dan hingga volumenya 2 ml. Encerkan dengan 5 ml air untuk memperoleh *Larutan uji*, zat dengan perlakuan khusus pada spesifikasi masing-masing dapat langsung digunakan sebagai *Larutan uji*.

[*Catatan Larutan yang dibuat dengan melarutkan dalam asam encer tidak termasuk dalam perlakuan khusus.*]

BERCAK BAKU Masukkan ke dalam labu generator 5 ml *kaliun iodida LP*, 2 ml *Larutan baku arsen*, 5 ml *timah(II) klorida asam LP* dan 28 ml air. Tambahkan 1,5 g *granul zink P* (serbuk nomor 20) segera tutup dengan sumbat karet yang sudah dilengkapi pipa. Celupkan labu generator ke dalam air pada suhu 25° selama pengujian untuk menimbulkan reaksi sehingga bercak yang terbentuk jelas dan dapat digunakan untuk membandingkan intensitas warna. Setelah pengeluaran hidrogen berlangsung selama 1 jam, angkat *kertas raksa(II) bromida* untuk dibandingkan. Bercak ini menunjukkan 2 µg arsen.

PROSEDUR Pipet ke dalam labu generator 5 ml *kaliun iodida LP* dan 5 ml *Larutan uji* dan tambahkan 5 ml *timah(II) klorida asam LP*. Pasang alat diaman pada suhu ruang selama 10 menit kemudian tambahkan 25 ml air dan 1,5 g *granul zink P* dan lakukan pengujian seperti pada bercak-bercak. Angkat *kertas raksa(II) bromida P* dan bandingkan bercak-bercak dengan *Bercak baku*. Bercak yang dihasilkan oleh *Larutan uji* tidak lebih besar atau lebih intensif menunjukkan tidak lebih dari 10 bpj arsen dari zat uji. Karena sinar, panas dan kelembaban cepat memucatkan bercak, masukkan kertas ke dalam tabung yang bersih dan kering, segera bandingkan bercak.

ZAT KIMIA PENGANGGU *Antimon*, jika ada dalam zat uji akan memberikan warna abu-abu. *Sulfit*, *sulfida*, *tiosulfat*, dan senyawa lain yang dapat membebaskan hidrogen sulfida atau sulfur dioksida

dengan asam nitrat dan kemudian direduksi dengan sulfur dioksida seperti tertera pada *Larutan uji* sebelum dimasukkan ke dalam alat. Beberapa *senyawa sulfur* maupun *fosfin* menimbulkan warna kuning terang pada kertas indikator. Jika ada *senyawa sulfur*, pasir atau kapas yang dibasahi dengan timbal asetat akan berwarna gelap. Bila hal ini terjadi ulangi pengujian mulai dari pembuatan larutan uji, pada larutan yang akan diuji harus benar-benar bebas asam sulfit. Dalam pengujian hipofosfit, perhatikan oksidasi harus sempurna, jika tidak uap fosfin dapat menimbulkan bercak kuning yang dapat mengganggu warna kuning jingga dari arsen. Bercak yang dihasilkan oleh fosfin dapat dibedakan dari bercak arsen dengan melembatkan kertas dengan *ammonium hidroksida 6 N*. Warna dari arsen menjadi gelap sedangkan warna dari fosfin tidak berubah.

#### **Klorida dalam Pereaksi**

**LARUTAN BAKU KLORIDA** Larutkan 165,0 mg *natrium klorida P* kering dalam air hingga 1000,0 ml. Larutan ini mengandung setara dengan 0,10 mg klor (Cl) per ml.

**PROSEDUR** Jika alkalis, netralkan larutan yang akan diuji dalam 25 ml air, atau larutan yang dibuat seperti tertera pada pengujian, dengan *asam nitrat P*, menggunakan indikator kertas lakmus, kemudian tambahkan lagi 3 ml *asam nitrat P*. Jika perlu, saring larutan melalui kertas saring yang telah dicuci dengan air sampai bebas klorida, dan tambahkan 1 ml *perak nitrat LP*. Campurkan, diamkan selama 5 menit lindungi dari cahaya matahari langsung. Jika terjadi kekeruhan, bandingkan dengan kekeruhan yang dihasilkan *Larutan baku klorida* yang mengandung klorida (Cl) sebanyak batas yang dibolehkan. Samakan volume larutan sebelum penambahan *perak nitrat LP* dan bandingkan kekeruhan.

Pada *Pengujian garam barium*, netralkan larutan dengan *asam nitrat P* dan tambahkan 3 tetes lagi *asam nitrat P*. Lakukan pengujian seperti di atas.

Pada *Pengujian larutan garam yang berwarna*, larutkan 2 g pereaksi dalam 25 ml air dan tambahkan 3 ml *asam nitrat P*. Jika perlu saring larutan melalui kertas saring yang telah dicuci dengan air. Filtrat dibagi dua sama banyak. Pada bagian pertama tambahkan 1 ml *perak nitrat LP*, diamkan selama 10 menit, jika terbentuk kekeruhan, saring melalui kertas saring yang telah dicuci, gunakan filtrat sebagai blangko. Pada bagian lain tambahkan 1 ml *perak nitrat LP* diamkan selama 5 menit lindungi dari cahaya matahari langsung. Bandingkan kekeruhan dengan kekeruhan blangko yang ditambah sejumlah volume *Larutan baku klorida* setara dengan jumlah klorida yang dipersyaratkan dalam pengujian, samakan volume kedua larutan.

#### **Fotometri Nyala Untuk Pengujian Pereaksi**

Fotometri nyala digunakan untuk menetapkan sesepora kalsium, kalium, natrium dan stronsium yang dinyatakan dalam spesifikasi beberapa pereaksi.

Kesesuaian pada penetapan tergantung pada kelengkapan peralatan yang digunakan dan ketersediaan instrumen yang selektif. Fotometer nyala yang digunakan adalah yang mempunyai tabung foto yang sensitif terhadap merah, tabung foto pelipat ganda, monokromator dan celah yang dapat diatur, tombol selektor dan pengatur kepekaan. Fotometer tipe lain dapat digunakan, jika dapat menetapkan secara tepat jumlah cemaran yang dibolehkan.

Prosedur fotometri nyala tergantung pada penggunaan baku semiinternal, jadi memerlukan *Larutan uji* dan *Larutan kontrol*. Untuk *Larutan uji* sejumlah berat tertentu dilarutkan dalam volume tertentu. Untuk *Larutan kontrol*, larutkan sejumlah yang sama zat uji, tambahkan cemaran yang diduga sejumlah batas yang dibolehkan lalu encerkan sampai volume yang sama dengan *Larutan uji*. Atur fotometer nyala hingga pembacaan emisi *Larutan kontrol* mendekati 100% pada panjang gelombang cemaran. Dengan tidak merubah alat, ukur emisi *Larutan uji* pada panjang gelombang yang sama dan panjang gelombang latar belakang. Pembacaan pada panjang gelombang latar belakang digunakan untuk koreksi emisi *Larutan uji* dari emisi yang disebabkan oleh pelarut dan zat uji. Zat uji mengandung cemaran kurang dari yang diperbolehkan jika perbedaan antara latar belakang dan jumlah emisi *Larutan uji* lebih kecil daripada perbedaan antara emisi *Larutan kontrol* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang yang ditetapkan untuk semua cemaran.

#### **Kalsium dalam Pereaksi**

**LARUTAN BAKU KALSIUM** Larutkan 250 mg *kalsium karbonat P* dalam campuran 20 ml air dan 5 ml *asam klorida encer P*, setelah larut sempurna, encerkan dengan air hingga 1000 ml. Larutan ini mengandung kalsium 0,10 mg per ml.

**PROSEDUR** Gunakan *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* yang dibuat dengan cara seperti tertera pada masing-masing prosedur pengujian. Atur lebar celah pada fotometer nyala pada 0,03 mm dan selektor pada 0,1. Atur alat hingga memberikan emisi maksimum dengan *Larutan kontrol* pada 422,7 nm garis kalsium dan rekam transmitans. Tanpa merubah pengaturan alat, ukur transmitans dari emisi *Larutan uji*. Atur monokromator hingga panjang gelombang yang dinyatakan dalam masing-masing prosedur dan rekam transmitans latar belakang dari emisi latar belakang *Larutan uji*. Perbedaan antara transmitans *Larutan uji* pada 422,7 nm dan panjang gelombang latar belakang tidak lebih besar dari perbedaan antara transmitans *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* pada 422,7 nm.

#### **Kalium dalam Pereaksi**

**LARUTAN BAKU KALIUM** Larutkan 191 mg *kalium klorida P* dalam beberapa ml air dan encerkan hingga 1000 ml. Encerkan sebagian dari larutan ini dengan air dalam perbandingan 1 sampai 10 hingga kadar 0,01 mg kalium (K) per ml.

PROSEDUR Gunakan *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* yang dibuat dengan cara seperti tertera pada masing-masing prosedur pengujian. [Catatan Jika menguji garam kalsium gunakan pembakar oksigen hidrogen.]

Atur lebar celah fotometer nyala yang dilengkapi dengan detektor yang peka terhadap merah pada 0,1 mm kecuali dinyatakan lain, atur selektor pada 0,1. Atur alat hingga memberikan emisi maksimum dengan *Larutan kontrol* pada panjang gelombang 766,5 nm garis kalium dan rekam transmisi. Tanpa mengubah alat, rekam transmisi dari emisi *Larutan uji* pada 766,5 nm. Atur monokromator pada 750 nm dan rekam transmisi latar belakang untuk emisi latar belakang dari *Larutan uji*: perbedaan antara transmisi *Larutan uji* pada 766,5 nm dan 750 nm tidak lebih besar daripada perbedaan antara transmisi *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* pada 766,5 nm.

#### Natrium dalam Pereaksi

LARUTAN BAKU NATRIUM Larutkan 254 mg natrium klorida P dalam beberapa ml air dan encerkan hingga 1000 ml. Encerkan sebagian dari larutan ini dengan air dalam perbandingan 1 sampai 10 hingga kadar 0,01 mg natrium (Na) per ml.

PROSEDUR Gunakan *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* yang dibuat dengan cara seperti tertera pada masing-masing prosedur pengujian.

Atur lebar celah fotometer nyala pada 0,01 mm dan atur selektor pada 0,1. Atur alat hingga memberikan emisi maksimum dengan *Larutan kontrol* pada panjang gelombang 589 nm garis natrium dan rekam transmisi. Tanpa mengubah alat, rekam transmisi untuk emisi dari *Larutan uji* pada 589 nm. Atur monokromator pada 580 nm dan rekam transmisi latar belakang untuk emisi latar belakang dari *Larutan uji*: perbedaan antara transmisi dari *Larutan uji* pada 589 nm dan 580 nm tidak lebih besar dari perbedaan antara transmisi *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* pada 589 nm.

#### Stronsium dalam Pereaksi

LARUTAN BAKU STRONSIUM Larutkan 242 mg stronsium nitrat P dalam beberapa ml air dan encerkan hingga 1000 ml. Encerkan sebagian dari larutan ini dengan air dalam perbandingan 1 sampai 10 hingga kadar 0,01 mg stronsium (Sr) per ml.

PROSEDUR Gunakan *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* yang dibuat dengan cara seperti tertera pada masing-masing prosedur pengujian.

Atur lebar celah fotometer nyala pada 0,03 mm dan atur selektor pada 0,1. Atur alat hingga memberikan emisi maksimum dengan *Larutan kontrol* pada 460,7 nm garis stronsium dan rekam transmisi. Tanpa mengubah alat, rekam transmisi untuk emisi *Larutan uji* pada 460,7 nm. Atur monokromator pada panjang gelombang seperti dinyatakan pada masing-masing prosedur pengujian dan rekam transmisi latar belakang untuk emisi latar belakang *Larutan uji* : perbedaan antara

transmisi dari *Larutan uji* pada 460,7 nm dan pada panjang gelombang latar belakang, tidak lebih besar dari perbedaan antara transmisi *Larutan uji* dan *Larutan kontrol* pada 460,7 nm.

#### Logam Berat dalam Pereaksi

LARUTAN BAKU TIMBAL Gunakan Larutan baku timbal seperti tertera pada *Uji Batas Logam Berat <371>*. Tiap ml larutan mengandung setara dengan 0,01 mg Pb.

PROSEDUR Kecuali dinyatakan lain, pengujian logam berat adalah sebagai berikut:

a. Jika batas logam berat 5 bpj, larutkan 6,0 g zat dalam air hingga 42 ml.

b. Jika batas logam berat 10 bpj atau lebih atau dalam hal kelarutannya terbatas, larutkan 4 g dalam air hingga 40 ml, jika perlu hangatkan untuk membantu kelarutan.

Untuk kontrol, masukkan 7 ml *Larutan* ke dalam tabung pembanding warna dan tambahkan sejumlah volume *Larutan baku timbal* setara dengan jumlah timbal yang dipersyaratkan dalam 4 g pereaksi. Encerkan dengan air hingga 35 ml dan tambahkan asam asetat encer P atau amonia LP, hingga pH lebih kurang 3,5 tetapkan secara potensiometrik, kemudian encerkan dengan air hingga 40 ml dan campurkan. Pindahkan 35 ml sisa *Larutan* ke dalam tabung pembanding warna yang sepadan dengan tabung yang digunakan untuk kontrol dan tambahkan asam asetat encer P atau amonia LP hingga pH lebih kurang 3,5, tentukan secara potensiometrik dan encerkan hingga 40 ml. Pada tiap tabung tambahkan 10 ml hidrogen sulfida LP, bandingkan warna dengan melihat dari atas pada dasar putih. Warna dari *Larutan uji* tidak lebih gelap daripada *Larutan kontrol*.

Jika larutan pereaksi dibuat dengan cara b, gunakan 10 ml untuk kontrol dan tambahkan sejumlah volume *Larutan baku timbal* yang setara dengan jumlah yang dipersyaratkan untuk 2 g pereaksi. Encerkan 30 ml sisa *Larutan b* dengan air hingga 35 ml, dan lanjutkan seperti di atas mulai dengan "tambahkan asam asetat encer P atau amonia LP" pada kalimat kedua.

Jika pereaksi yang diuji untuk logam berat merupakan garam dari asam organik alifatik, ganti asam asetat dengan asam klorida 1 N pada pengerjaan selanjutnya.

#### Zat Tak Larut dalam Pereaksi

Larutkan pereaksi yang akan diuji dalam 100 ml air, panaskan hingga mendidih, kecuali dinyatakan lain, dalam gelas piala tertutup dan hangatkan di atas tangas uap selama 1 jam. Saring larutan panas melalui penyaring asbes yang telah ditara atau melalui penyaring kaca masir dengan pori halus yang telah ditara. Cuci gelas piala dan penyaring dengan air panas sampai bersih, keringkan pada suhu 105°, dinginkan dalam desikator, dan timbang.

### Susut Pengeringan untuk Perekasi

Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan Susut Pengeringan <1121>*.

#### Nitrat dalam Perekasi

LARUTAN BAKU NITRAT Larutkan 163 mg *kalium nitrat P* dalam 100 ml air, encerkan 10 ml larutan ini hingga 1000 ml, diperoleh larutan yang mengandung setara dengan 0,01 mg  $\text{NO}_3$  per ml.

LARUTAN BRUSIN SULFAT Larutkan 600 mg *brusin sulfat P* dalam 600 ml larutan *asam sulfat P* (2 dalam 3) bebas nitrat yang sebelumnya sudah didinginkan sampai suhu ruang, dan encerkan dengan *asam sulfat P* hingga 1000 ml. [Catatan Buat *asam sulfat bebas nitrat* dengan cara menambahkan 4 bagian *asam sulfat P*, ke dalam 1 bagian air, panaskan larutan untuk mengeluarkan uap sulfur trioksida dan dinginkan. Ulangi pengenceran dan pemanasan tiga atau empat kali.]

LARUTAN UJI Pada sejumlah zat seperti dinyatakan pada masing-masing spesifikasi pereaksi, tambahkan air sejumlah tertentu dan tambahkan *Larutan brusin sulfat* hingga 50 ml.

LARUTAN KONTROL Pada sejumlah volume *Larutan baku nitrat* yang setara dengan berat nitrat ( $\text{NO}_3$ ) seperti dinyatakan dalam masing-masing spesifikasi pereaksi, tambahkan sejumlah berat zat uji seperti yang dinyatakan dalam masing-masing spesifikasi pereaksi, kemudian tambahkan *Larutan brusin sulfat* hingga 50 ml.

LARUTAN BLANGKO Gunakan 50 ml *Larutan brusin sulfat*.

PROSEDUR Panaskan *Larutan uji*, *Larutan kontrol* dan *Larutan blangko* dalam tangas air mendidih selama 10 menit, dinginkan segera dalam tangas es hingga suhu ruang. Atur spektrofotometer hingga *Larutan blangko* memberikan serapan 0 pada panjang gelombang 410 nm. Ukur serapan *Larutan uji*, rekam hasil, kemudian atur alat hingga memberikan serapan 0 untuk *Larutan uji*. Tetapkan serapan *Larutan kontrol*: pembacaan serapan *Larutan uji* tidak lebih dari *Larutan kontrol*.

#### Senyawa Nitrogen dalam Perekasi

PROSEDUR Kecuali dinyatakan lain, uji senyawa nitrogen adalah sebagai berikut: Larutkan sejumlah tertentu zat dalam 60 ml *air bebas amonia P* dalam labu Kjeldahl yang dihubungkan dengan pendingin, yang ujungnya dicelupkan di bawah permukaan 10 ml *asam klorida 0,1 N*. Tambahkan 10 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) yang baru di didihkan dan 500 mg kawat aluminium dalam potongan kecil-kecil, ke dalam labu Kjeldahl, diamkan selama 1 jam, cegah kehilangan *amonium hidroksida*. Destilasi sebanyak 35 ml, dan encerkan destilat dengan 50 ml. Tambahkan 2 ml larutan *natrium hidroksida P* yang baru dididihkan (1 dalam 10), tambahkan 2 ml *raksa(II) kalium iodida alkalis LP*: warna yang terjadi tidak lebih gelap dari

kontrol yang mengandung N yang ditambahkan (sebagai amonium klorida) seperti tertera pada masing-masing prosedur pengujian.

#### Fosfat dalam Perekasi

LARUTAN BAKU FOSFAT Larutkan 143,3 mg *kalium fosfat monobasa P* yang telah dikeringkan, dalam air hingga 1000,0 ml. Larutan ini mengandung setara dengan 0,10 mg fosfat ( $\text{PO}_4$ ) per ml.

PEREAKSI FOSFAT A Larutkan 5 g *amonium molibdat P* dalam *asam sulfat 1 N* hingga 100 ml.

PEREAKSI FOSFAT B Larutkan 200 mg *p-metil aminofenol sulfat P* dalam 100 ml air dan tambahkan 20 g *natrium bisulfit P*. Simpan larutan ini dalam botol tertutup rapat dan terisi penuh, gunakan dalam waktu satu bulan.

PROSEDUR [Catatan Pengujian zat uji dan kontrol dilakukan dalam tabung pembanding warna yang sepadan.] Larutkan sejumlah pereaksi seperti yang dinyatakan pada pengujian pereaksi atau residu yang diperoleh dari perlakuan sebelumnya dalam 20 ml air, jika perlu dengan menghangatkan, tambahkan 2,5 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 7) dan encerkan dengan air hingga 25 ml. (Dapat juga pereaksi atau residu dilarutkan dalam 25 ml asam sulfat yang normalitasnya lebih kurang 0,5 N). Kemudian tambahkan masing-masing 1 ml *Pereaksi fosfat A* dan *B*, campurkan, diamkan pada suhu ruang selama 2 jam. Bandingkan warna biru yang terjadi dengan warna biru dari kontrol yang dikerjakan dengan perlakuan yang sama dan sejumlah volume *Larutan baku fosfat* yang setara dengan jumlah fosfat ( $\text{PO}_4$ ) seperti tertera pada spesifikasi pereaksi.

#### Sisa Pemijaran dalam Perekasi

PROSEDUR Kecuali dinyatakan lain, lakukan penetapan sisa pemijaran sebagai berikut: Timbang saksama 1 g sampai 2 g zat dalam cawan yang sesuai yang sebelumnya sudah dipijarkan, didinginkan dan ditimbang. Pijarkan perlahan-lahan dengan api kecil kemudian dengan api lebih besar, jika sampai mengarang sempurna adalah zat organik atau jika sampai menguap sempurna adalah zat anorganik. Jika dinyatakan harus menggunakan asam sulfat, dinginkan cawan, tambahkan sejumlah asam yang telah ditentukan, pijarkan perlahan-lahan hingga uap asam habis. Kemudian pijarkan cawan pada suhu  $800^{\circ}\pm 25^{\circ}$ , dinginkan dalam desikator, dan timbang. Jika tidak harus menggunakan asam sulfat, cawan tidak perlu didinginkan, tetapi langsung dipijarkan pada suhu  $800^{\circ}\pm 25^{\circ}$ , jika pengarang atau penguapan sudah selesai. Lanjutkan pemijaran sampai bobot tetap, kecuali dinyatakan lain.

Lakukan pemijaran dalam lemari asam dengan ventilasi yang baik, tetapi lindungi dari aliran udara dan lakukan pada suhu serendah mungkin untuk pembakaran karbon sempurna. Pemijaran dapat juga dilakukan dengan tanur, dan pemijaran akhir pada suhu  $800^{\circ}\pm 25^{\circ}$ .

### Sulfat dalam Pereaksi

**LARUTAN BAKU SULFAT** Larutkan 181,4 mg kalium sulfat P kering hingga 1000 ml. Larutan ini mengandung setara dengan 0,10 mg sulfat (SO<sub>4</sub>) per ml.

**PROSEDUR Metode I** Jika perlu netralkan larutan sejumlah pereaksi atau residu seperti dinyatakan pada pengujian dalam 25 ml air; atau larutan yang dibuat seperti yang dinyatakan pada pengujian dalam 25 ml air; atau larutan yang dibuat seperti yang dinyatakan pada pengujian, dengan asam klorida P atau dengan amonia LP, gunakan indikator kertas lakmus dan tambahkan 1 ml asam klorida 1 N. Jika perlu saring larutan dengan kertas saring yang sebelumnya telah dicuci dengan air dan tambahkan 2 ml barium klorida LP. Diamkan selama 10 menit. Jika ada kekeruhan, bandingkan dengan kekeruhan yang terjadi pada kontrol yang mengandung jumlah dan pereaksi yang sama dengan yang digunakan pada pengujian dan jumlah Larutan baku sulfat yang mengandung sulfat (SO<sub>4</sub>) setara dengan yang diperbolehkan. Samakan volume kedua larutan sebelum penambahan barium klorida LP.

**Metode II** Panaskan larutan yang dibuat sesuai dengan masing-masing prosedur pengujian, atau filtrat yang diperoleh dari prosedur pengujian hingga mendidih dan tambahkan 56 ml barium klorida LP. Ekstraksi larutan di atas tangas uap selama 2 jam dan diamkan satu malam. Jika terbentuk endapan, saring larutan melalui kertas saring, cuci endapan dengan air panas dan pindahkan kertas saring yang berisi endapan ke dalam cawan yang telah ditara. Arangkan kertas tanpa terbakar dan pijarkan cawan berikut isinya sampai bobot tetap. Lakukan penetapan blangko seperti penetapan zat uji. Kurangi sisa pijar zat uji dengan sisa pijar blangko, selisihnya merupakan kandungan sulfat dalam pereaksi.

### PEREAKSI DAN LARUTAN PEREAKSI

**Adenin sulfat P** (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; BM 404,36.

**Pemerian** Hablur atau serbuk hablur putih. Setelah pengeringan pada suhu 110°, melebur pada suhu lebih kurang 200° disertai peruraian.

**Kelarutan** 1 g larut dalam lebih kurang 160 ml air; sedikit larut dalam etanol. Larut dalam larutan natrium hidroksida. Tidak mengendap dengan larutan iodum LP atau raksa(II) kalium LP, tetapi terbentuk endapan dengan trinitrofenol LP.

**Sisa Pemijaran** Dapat diabaikan; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi, menggunakan 100 mg zat.

**Air** Lakukan pengeringan pada suhu 105° sampai bobot tetap: kehilangan bobot tidak kurang dari 10,0 %.

**Agar P** Gunakan Agar seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V. Untuk keperluan mikrobiologi; lakukan pengeringan hingga kadar air tidak lebih dari 20 %.

**Air amonia P** Gunakan Amonium hidroksida P.

**Air bebas amonia P** Gunakan Air kemurnian tinggi.

**Air bebas amonia dan karbondioksida P** Air bebas karbondioksida P yang memenuhi syarat air bebas amonia P.

**Air bebas karbon dioksida P** Air bebas karbon dioksida P adalah Air Murni yang telah dididihkan kuat-kuat selama 5 menit atau lebih dan didiamkan sampai dingin, serta tidak boleh menyerap karbon dioksida dari udara.

**Air bermorfin LP** Kocok morfin anhidrat P dengan air kloroform LP dan biarkan tidak kurang dari 7 hari pada suhu ruang, kocok sesekali, hingga diperoleh larutan jenuh alkaloid. Saring morfin yang tidak larut segera sebelum digunakan.

**Air brom LP** Larutan jenuh brom, dibuat dengan mengocok 2 - 3 ml brom P dengan 100 ml air dalam botol bertutup kaca, tutup harus diberi pelicin. Simpan dalam tempat dingin, terlindung dari cahaya.

**Air kemurnian tinggi P** Air yang mempunyai konduktivitas tidak lebih dari 0,15 µS per cm.

**Air kloroform LP** Kocok 2,5 ml kloroform P dengan 900 ml air sampai larut dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Air suling P** Air murni yang diperoleh dengan penyulingan.

**Air untuk injeksi P** Gunakan Air untuk injeksi seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Akrilamida P** C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NO; BM 71,08; [79-06-1]; murni pereaksi

**Suhu lebur** Lebih kurang 84°.

**Albumin, larutan P** Encerkan albumin dengan Injeksi natrium klorida secukupnya hingga kadar protein 0,1 % dan atur pH antara 3,5 dan 4,5 dengan penambahan asam asetat glasial P.

**Albumin sapi P** Gunakan Albumin plasma sapi P.

**Albumin plasma sapi P, kering** Albumin sapi P; BM 66,0; [9048-46-8]. Gunakan kualitas yang sesuai.

**Pemerian** serbuk hampir tidak berwarna hingga kuning pucat.

**Kemurnian** tidak kurang dari 95%.

**Kelarutan** 40 mg dalam 1 ml air.

**Penyimpanan** pada suhu 2°-8°.

**Albumin serum P** Gunakan Albumin plasma sapi P.

**Alfanaftol P** Gunakan 1-naftol P.

**Alkohol P** Gunakan *Etanol P* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Alumina P** Gunakan *aluminium oksida tercuci asam P*.

**Alumina anhidrat P** *Aluminium oksida; Aluminium yang khusus digunakan dalam analisis kromatografi* [1344-28-1].

*Pemerian* Putih atau serbuk putih; ukuran 80 sampai 200 mesh; tidak lembut; mengembang atau rusak dalam air. Tidak tercuci dengan asam.

*Wadah dan Penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik.

**Aluminium P** Al; BM 26,98; [7429-90-5]; murni pereaksi.

*Arsen* Masukkan 750 mg zat dalam botol bermulut besar (lihat *Arsen dalam Pereaksi* pada *Uji Pereaksi*). Tambahkan 10 ml air dan 10 ml larutan *natrium hidroksida P* (3 dalam 10), dan biarkan terjadi reaksi selama 30 menit: terbentuk bercak yang hampir tidak kelihatan pada kertas *raksa(II) bromida P*.

**Aluminium hidroksida gel P** Al(OH)<sub>3</sub> + aquadest; [21645-51-2]; murni pereaksi.

**Aluminium klorida P** *Aluminium klorida heksahidrat; AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O*; BM 241,4; [7784-13-6]; murni pereaksi, mengandung tidak kurang dari 98,0%.

*Wadah dan penyimpanan* Simpan dalam wadah tertutup rapat.

**Aluminium oksida tercuci asam P** [1344-28-1]; (*Alumina yang dibuat khusus untuk digunakan dalam analisis kromatografi*).

*Pemerian* Butir halus atau serbuk, putih atau praktis putih; sangat higroskopis.

*pH* campuran 5 g zat dalam 150 ml *air bebas amonia* dan *karbon dioksida P*, setelah didiamkan 10 menit pH antara 3,5 dan 4,5.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 5%; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, pijarkan dalam tanur pada suhu 800° hingga 825° sampai bobot tetap.

*Silika* Campur 500 mg zat dengan 10 g *kalium bisulfat P*, dalam krus platina pijarkan selama 1 jam, dinginkan dan larutkan dalam air panas: hampir tidak ada sisa yang tidak larut dalam air.

*Kesesuaian dalam kromatografi jerapan* Tidak kurang 0,3 mg *o-nitroanilin* dijerap untuk setiap g aluminium oksida. Larutkan 50 mg *o-nitroanilina P* dalam *benzen P* hingga 50,0 ml. Encerkan 10 ml larutan dengan *benzen P* hingga 100,0 ml (*Larutan A*). Timbang secara cepat lebih kurang 2 g (±0,005) zat dalam botol timbang bersumbat kaca dan masukkan dengan cepat ke dalam tabung reaksi bersumbat kaca yang kering. Tambahkan 20,0 ml *Larutan A*, tutup, kocok kuat selama 3 menit dan diamkan. Pipet 10 ml beningan, ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *benzen P* sampai tanda (*Larutan B*). Ukur serapan *Larutan A* dan *Larutan B* pada panjang gelombang 395 nm terhadap *benzen P*

sebagai blangko. Hitung jumlah dalam mg, zat yang terjerap per g contoh dengan rumus:

$$\frac{2 \left( 1 - \frac{A_B}{A_A} \right)}{W}$$

*A<sub>A</sub>* dan *A<sub>B</sub>* berturut-turut adalah serapan *Larutan A* dan *Larutan B*; *W* adalah bobot dalam g, zat yang digunakan.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat.

**Aluminium sulfat P** Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.16H<sub>2</sub>O; BM 630,4; [10043-01-3]; murni pereaksi.

**Amil Alkohol P** *Isomil alkohol P; Isopentil alkohol P; C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>OH*; BM 88,15; [598-75-4]; murni pereaksi.

**Amilum larut P** Gunakan *kanji larut P*.

**4-Aminoantipirin P** *4-Aminofenazon P; C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O*; BM 203,254; [83-07-8]

*Pemerian* Serbuk hablur warna kuning muda; 500 mg zat larut sempurna dalam 30 ml air dan memberikan larutan jernih.

*Jarak lebur* <1021> Antara 108° dan 110°.

**4-Aminofenazon P** Gunakan *4-aminoantipirin P*.

**Aminofenazon LP** Larutan *4-aminofenazon P* 0,1 % dalam *dapar borat pH 9,0*.

**p-Aminofenol P**; C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO; BM 109,13; [123-30-8]

*Pemerian* Serbuk hablur halus, kekuningan.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dan dalam etanol.

*Jarak lebur* <1021> Antara 187° dan 189°.

**2-Amino-5-klorobenzofenon P** C<sub>3</sub>H<sub>10</sub>ClNO; BM 231,68; [719-59-5]; gunakan *2-Amino-5-klorobenzofenon BPFI*.

**Amonia LP** Encerkan 350 ml *amonium hidroksida P* dengan air hingga 1000 ml. Larutan mengandung antara 9,5 % dan 10,5 % NH<sub>3</sub>.

**Amonium asetat P** NH<sub>4</sub>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>; BM 77,08; [631-61-8]; murni pereaksi.

**Amonium asetat LP** Larutkan 10 g *amonium asetat P* dalam air hingga 100 ml.

**Amonium besi(III) sulfat LP** Gunakan *besi(III) amonium sulfat LP*.

**Amonium bikarbonat P** *Amonium hidrogen karbonat; NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>*; BM 79,06; [1066-33-7]; murni pereaksi. Tidak kurang dari 99,0%.

**Amonium dihidrogen fosfat P** Gunakan *amonium fosfat monobasa P*.

**Amonium etanol LP** Larutan dari gas amoniak dalam etanol P. Mengandung  $\text{NH}_3$  antara 9% dan 11%.

*Pemerian* cairan jernih, tidak berwarna, berbau amoniak.

*Bobot jenis* Lebih kurang 0,80.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tahan alkali, simpan di tempat dingin.

**Amonium format P** Garam amonium asam format;  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ ; BM 63,06; [540-69-2]; murni pereaksi.

**Amonium fosfat P** Gunakan amonium fosfat dibasa P.

**Amonium fosfat dibasa P** Diamonium hidrogenfosfat P; Amonium fosfat P;  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ; BM 132,06; [7783-28-0]; murni pereaksi.

**Amonium fosfat monobasa P** Amonium dihidrogen fosfat P;  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ; BM 115,03; [7722-76-1]; murni pereaksi.

**Amonium hidrogen karbonat** Gunakan amonium bikarbonat P.

**Amonium hidroksida P**; Air Amonia P; Larutan  $\text{NH}_3$  25 % b/b; [1336-21-6]; murni pereaksi.

**Amonium karbonat P** Garam Hartshorn [506-87-6]; murni pereaksi.

**Amonium karbonat LP** Larutkan 20 g amonium karbonat P dan 20 ml amonia LP dalam air hingga 100 ml.

**Amonium klorida P**  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; BM 53,49; [12125-02-9]; murni pereaksi.

**Amonium metavanadat P**  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ; BM 116,98; [7803-55-6]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur putih.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dingin; larut dalam air panas dan dalam amonium hidroksida encer.

**Amonium molibdat P**  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; BM 1235,86; [12054-85-2]; murni pereaksi.

**Amonium molibdat LP** Larutkan 6,5 g asam molibdat P yang diserbuk halus dalam campuran 14 ml air dan 14,5 ml amonium hidroksida P. Dinginkan larutan, tambahkan perlahan-lahan sambil diaduk ke dalam campuran 32 ml asam nitrat P dan 40 ml air yang sudah dingin. Biarkan selama 48 jam, dan saring melalui penyaring kaca masir dengan porositas halus. Larutan ini rusak pada penyimpanan dan tidak boleh digunakan jika pada penambahan 2 ml natrium fosfat dibasa LP ke dalam 5 ml larutan tidak segera terbentuk endapan kuning ataupun setelah dihangatkan.

*Wadah dan penyimpanan* Simpan larutan di tempat gelap. Jika selama penyimpanan terbentuk endapan, gunakan beningan.

**Amonium molibdat, pereaksi** Campur dengan urutan sebagai berikut: 1 bagian volume larutan amonium molibdat P 2,5 %, 1 bagian volume larutan asam askorbat P 10 % dan 1 bagian volume asam sulfat 3 M; tambahkan 2 bagian volume air. Pereaksi amonium molibdat hanya dapat digunakan dalam 1 hari.

**Amonium nitrat P**  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; BM 80,04; [6484-52-2]; murni pereaksi.

**Amonium oksalat P**  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ ; BM 142,11; [6009-70-7]; murni pereaksi.

**Amonium oksalat LP** Larutkan 3,5 g amonium oksalat P dalam air hingga 100 ml.

**Amonium persulfat P** Amonium peroksidisulfat;  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ; BM 228,20; [7727-54-0]; murni pereaksi.

**Amonium Reineckat P** Garam Reinecke; Amonium tetrasianatodiaminokromat(III) monohidrat;  $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]\cdot\text{H}_2\text{O}$ ; BM 354,44; [13573-16-5].

*Pemerian* Hablur merah tua atau serbuk hablur warna merah.

*Kelarutan* Larut dalam air dingin, mudah larut dalam air panas. Dalam larutan perlahan-lahan terurai.

*Kepekaan* Larutkan 50 mg zat dalam 10 ml air. Tambahkan 0,2 ml larutan ini ke dalam 1 ml larutan 10 mg kolin klorida P dalam 20 ml air, dan kocok perlahan-lahan; terbentuk endapan yang nyata dalam waktu 5 detik sampai 10 detik.

**Amonium sitrat LP** Larutkan disertai pendinginan, 500 g asam sitrat P dalam campuran 200 ml air dan 200 ml amonium hidroksida P. Saring dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Amonium sitrat dibasa P**  $(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ; BM 226,18; [3012-65-5]; murni pereaksi.

**Amonium sulfamat P**  $\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$ ; BM 114,13; [7773-06-0]; murni pereaksi.

**Amonium sulfat P**  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; BM 132,14; [7783-20-2]; murni pereaksi.

**Amonium sulfida LP** Jenuhkan sejumlah amonia LP dengan hidrogen sulfida P dengan cara mengalirkan gas hidrogen sulfida P dalam larutan amonia LP selama 1 menit. Larutan harus dibuat segar. Larutan ini tidak menjadi keruh dengan penambahan magnesium sulfat LP atau kalsium klorida LP yang menunjukkan tidak adanya karbonat. Larutan ini tidak boleh digunakan jika terdapat endapan sulfur.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,05%.

**Amonium tiosianat P**  $\text{NH}_4\text{SCN}$ ; BM 76,12; [1762-95-4]; murni pereaksi.



**Amonium tiosianat LP** Larutkan 8 g *amonium tiosianat P* dalam air hingga 100 ml.

**Amonium vanadat P** *Amonium metavanadat P*;  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ; BM 116,98; [7803-55-6]. Mengandung tidak kurang dari 98 %  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dingin; larut dalam air panas dan dalam amonium hidroksida encer.

*Kelarutan dalam amonium hidroksida* Larutkan 1 g zat dalam campuran 3 ml *amonium hidroksida P* dan 50 ml air hangat: larutan jernih dan tidak berwarna.

*Karbonat* Pada 500 mg zat tambahkan 1 ml air dan 2 ml *asam klorida encer P*: tidak terbentuk gelembung gas.

*Klorida* Tidak lebih dari 0,2 %. Larutkan 250 mg zat dalam 40 ml air panas, tambahkan 2 ml *asam nitrat P*, dan biarkan selama 1 jam. Saring, ke dalam filtrat tambahkan 0,5 ml *perak nitrat LP*: larutan tidak lebih keruh dari blangko yang mengandung 0,5 mg klorida.

*Sulfat* Larutkan 500 mg zat dalam 50 ml air panas, tambahkan 2 ml *asam klorida encer P* dan 1,5 g *hidroksilamin hidroklorida P*. Panaskan pada suhu 60° selama 3 menit, saring, dinginkan dan ke dalam filtrat tambahkan 2 ml *barium klorida LP*: tidak terbentuk kekeruhan atau endapan dalam waktu 30 menit.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 30 ml air dan 2 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 4), goyang hingga larut, dan alirkan gas *belerang dioksida P* ke dalam larutan hingga reduksi sempurna dan larutan berwarna biru terang. Didihkan perlahan-lahan sambil dialirkan karbondioksida ke dalam larutan untuk menghilangkan kelebihan *belerang dioksida P*, dinginkan, dan titrasi dengan *kaliun permanganat 0,1 N LV*.

*Tiap ml kaliun permanganat 0,1 N setara dengan 11,7 mg  $\text{NH}_4\text{VO}_3$*

**Anhidrat asetat P**  $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ ; BM 102,09; [108-24-7]; murni pereaksi.

**Anhidrida asetat-dioksan LP** Tambahkan 1 ml *anhidrat asetat P* pada 50 ml *dioksan P*.

**Anhidrida ftalat P**  $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$ ; BM 148,12; [85-44-9]; murni pereaksi.

**Anhidrida perosmat P** Gunakan *osmium tetroksida P*.

**Anilin P**  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$ ; BM 93,13; [62-53-3]; murni pereaksi.

**Anisaldehyda P** *4-Metoksibenzaldehida P*;  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ ; BM 136,15; [123-11-5].

*Pemerian* Cairan jernih tidak berwarna.

*Suhu didih* Lebih kurang 248°.

*Bobot per ml* <991> Lebih kurang 1,119 – 1,123.

*Indeks refraksi* Antara 1,5725 – 1,5370.

**Anisol P**  $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_5$ ; BM 108,14; [100-66-3].

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Indeks bias* <1001> 1,5160; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan sejumlah zat yang sesuai (lebih kurang 0,5  $\mu\text{l}$ ) ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler 30 m, dilapisi dengan fase diam G3. Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada suhu 140° dan 300°, atur suhu kolom pada 70° dan naikkan dengan kecepatan 10° per menit hingga 170°. Gunakan *nitrogen P* sebagai gas pembawa. Luas puncak anisol tidak kurang dari 99% dari jumlah luas puncak.

**Antimon(III) klorida P** *antimon klorida P*;  $\text{SbCl}_3$ ; BM 228,12; [10025-91-9]; murni pereaksi.

**Antimon(III) klorida LP** Larutkan 20 g *antimon(III) klorida P* dalam *kloroform P* hingga 100 ml, saring jika perlu.

**Antimon triklorida P** Gunakan *antimon(III) klorida P*.

**Antron P**  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}$ ; BM 194,23; [90-44-8]; murni pereaksi.

**Antron LP** Larutkan dengan cepat 35 mg *antron P* dalam campuran panas 35 ml air dan 65 ml *asam sulfat P*. Dinginkan segera di dalam tangas es hingga suhu ruang, saring melalui wol kaca. Biarkan larutan pada suhu ruang selama 30 menit sebelum digunakan. Larutan ini harus digunakan dalam waktu 12 jam.

**Aprotinin P** [9087-70-1] Mengandung 10 - 20 satuan inhibitor tripsin per mg.

**L-Arabinosa P**  $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}$ ; BM 150,1; [87-72-9]; murni pereaksi

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Rotasi jenis* Antara +103° sampai +105° (larutan 5% dalam air yang mengandung lebih kurang 0,05 %  $\text{NH}_3$ ).

**Arakhidik alkohol P** *Eikosan-1-ol*; *arakhidil alkohol*  $\text{C}_{20}\text{H}_{42}\text{O}$ ; BM 289,6; [629-96-9]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 95 %  $\text{C}_{20}\text{H}_{42}\text{O}$ .

*Pemerian* Padatan berlemak atau hablur, tidak berwarna.

**Arang aktif P** *Karbon aktif P*; *karbon dekolorisasi P*; Gunakan *Arang jerap* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Argon P** Ar; BM 39,95; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 99,995 % v/v Ar.

**Arsen trioksida P**  $\text{As}_2\text{O}_3$ ; BM 197,84; [1327-53-3]; murni pereaksi.

**Asam adipat P** *Asam heksandioik; asam 1,4 butenadikarboksilat*;  $C_6H_{10}O_4$ ; BM 146,14. [124-04-9]; Mengandung tidak kurang dari 98 %  $C_6H_{10}O_4$ .

*Pemerian* Serbuk hablur tidak berwarna sampai putih.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dan dalam sikloheksana; larut dalam etanol, dalam metanol dan dalam aseton; praktis tidak larut dalam benzen dan dalam eter minyak tanah.

*Jarak lebur* <1021> Antara  $151^\circ$  dan  $155^\circ$ , jarak awal dan akhir melebur tidak lebih dari  $2^\circ$ .

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, larutkan dalam 50 ml *etanol P*, tambahkan 25 ml air, campur dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV* hingga pH 9,5. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium hidroksida 0,5 N setara dengan 36,54 mg  $C_6H_{10}O_4$*

**Asam aminoasetat P** *Glisin*;  $NH_2CH_2COOH$ ; BM 75,07. [56-40-6]; Mengandung tidak kurang dari 98,5 %  $C_2H_5NO_2$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Sangat mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol.

*Kandungan nitrogen* Antara 18,4 dan 18,8 % N; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi*, dengan metode Kjeldahl, menggunakan zat uji yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

*Zat tak larut* Tidak lebih dari 1 mg (0,01%); lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi*, menggunakan 10 g zat.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,05 %; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi*.

*Klorida* Tidak lebih dari 100  $\mu g$  Cl (0,01%); lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi* menggunakan 1 g zat.

*Sulfat* Tidak lebih dari 100  $\mu g$   $SO_4$  (50 bpj); lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi Metode I*, menggunakan 2 g zat.

*Logam berat* Lebih kurang 10 bpj; lakukan penetapan menggunakan 5 ml *asam klorida 1 N* untuk mengasamkan larutan uji. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi*

*Besi* <331> Tidak lebih dari 0,01 mg Fe (10 bpj); lakukan penetapan menggunakan 1 g zat yang dilarutkan dalam 47 ml air yang mengandung 3 ml *asam klorida P*.

**Asam p-aminobenzoat P**  $H_2NC_6COOH$ ; BM 137,14. [150-13-0]; Mengandung tidak kurang dari 98,5 %  $H_2NC_6H_4COOH$

*Pemerian* Putih atau sedikit kuning; hablur tidak berbau atau serbuk hablur, menjadi tidak berwarna jika terpapar udara atau cahaya

*Kelarutan* 1 g larut dalam 170 ml air, dalam 9 ml air panas, dalam 8 ml etanol, dan dalam 50 ml eter; mudah larut dalam larutan natrium hidroksida dan dalam larutan karbonat; larut dalam gliserin; agak sukar larut dalam asam klorida encer; sukar larut dalam kloroform.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam. Masukkan ke dalam gelas piala. Tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan 5 ml air, aduk sampai larut. Dinginkan dalam tangas es hingga suhu lebih kurang  $5^\circ$ , tambahkan lebih kurang 25 g pecahan es ke dalam tangas es. Titrasi perlahan-lahan dengan *natrium nitrit 0,1 M LV* hingga jika larutan yang dititrasi digoreskan pada *kertas amilum P* terjadi warna biru. Lanjutkan titrasi hingga warna biru menetap jika dibiarkan selama 1 menit.

*Tiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 13,71 mg  $C_7H_7NO_2$*

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya.

**Asam 4-amino-3-hidroksi-1-naftalensulfonat P**  $C_{10}H_9NO_4S$ ; BM 239,25; [116-63-2]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk, berwarna ungu.

**Asam-p-aminohipurat P** *Asam aminohipurat; N-(4-Aminobenzoil)glisin*;  $C_9H_{10}N_2O_3$ ; BM 194,2; [61-78-9]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk, putih atau hampir putih.

*Suhu lebur* Lebih kurang  $200^\circ$ .

**Asam aminohipurat LP** Larutkan 3 g *asam ftalat P* dan 300 mg *asam p-aminohipurat P* dalam sejumlah *etanol P* hingga 100 ml.

**Asam 1,2,4-aminonaftolsulfonat P**  $C_{10}H_9NO_4S$ ; BM 239,25

*Pemerian* Serbuk, putih sampai merah muda kecokelatan lemah.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air.

*Kepekaan* Larutkan 100 mg zat dalam 50 ml larutan segar *natrium bisulfid P* (1 dalam 5), jika perlu hangatkan sampai larut, saring. Tambahkan 1 ml filtrat ke dalam larutan yang dibuat dengan menambahkan 2 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 6), dan 1 ml *Perekasi Fosfat A* yang tertera pada *Uji Perekasi* ke dalam 20 ml enceran *Larutan baku fosfat* (1 dalam 100) yang tertera pada *Uji Perekasi*; terjadi warna biru dalam waktu 5 menit.

*Kelarutan dalam larutan natrium karbonat* Larutkan 100 mg zat dalam 3 ml *natrium karbonat LP* dan tambahkan 17 ml air; hampir semua larut.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,5%; pada 1 g zat tambahkan 0,5 ml *asam sulfat P* dan pijarkan pada suhu  $800 \pm 25^\circ$  hingga bobot tetap; bobot residu tidak lebih dari 5 mg.

*Sulfat* tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Perekasi Metode I*. Panaskan 500 mg zat dengan campuran 25 ml air dan 2 tetes *asam klorida P* pada tangas uap selama 10 menit. Dinginkan, encerkan dengan air hingga 200 ml dan saring; 20 ml filtrat tidak boleh mengandung lebih dari 0,25 mg ion sulfat.

**Asam aminonaftolsulfonat LP** Timbang saksama 5 g *natrium sulfat P*; 94,3 g *natrium bisulfat P* dan 700 mg *asam 1,2,4 aminonaftolsulfonat P*, campur. Buat asam *aminonaftolsulfonat LP* segar pada hari penggunaan dengan melarutkan 1,5 g campuran kering dalam 10 ml air.

**Asam 3-aminosalisilat P**;  $C_7H_7NO_3$ ; BM 153,14; [570-23-0]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 97%  $C_7H_7NO_3$ ;

*Pemerian* Serbuk berwarna abu-abu cokelat.

**Asam asetat P** *Asam asetat 6 N*; Gunakan *Asam Asetat* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V atau dengan mengencerkan *asam asetat glasial P* hingga diperoleh kadar akhir asam asetat antara 36,0% - 37,0%.

**Asam asetat encer P** *Asam asetat 1 N*; Encerkan 60,0 ml *asam asetat glasial P* dengan air hingga 1000 ml.

*Sisa penguapan* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan dengan menguapkan 50 ml zat di atas tangas uap, dan keringkan residu pada suhu 105° selama 2 jam; bobot residu tidak lebih dari 1 mg.

*Klorida* Tidak lebih dari 2 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 5 ml zat.

*Sulfat* Tidak lebih dari 5 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi Metode I*, menggunakan 10 ml zat.

*Logam berat* Tidak lebih dari 2 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji pereaksi*, menggunakan 20 ml zat: uapkan di atas tangas uap hingga kering. Tambahkan 2 ml *asam asetat encer P* pada sisa, encerkan dengan air hingga 25 ml dan tambahkan 10 ml *asam sulfida LP*: warna cokelat yang terjadi tidak lebih tua dari larutan pembanding yang mengandung 0,04 mg timbal dan 2 ml *asam asetat encer P*.

**Asam asetat glasial P**  $CH_3COOH$ ; BM 60,05; [64-19-7]; murni pereaksi.

**Asam N-asetilneuraminat P** *Asam O-sialat*  $C_{11}H_{19}NO_9$ ; BM 309,3; [131-48-6].

*Titik didih* Lebih kurang 186° dengan peruraian.

*Rotasi jenis* Lebih kurang -36° (larutan 1% dalam air).

**Asam askorbat P** *L-Asam askorbat P*;  $C_6H_8O_6$ ; BM 176,1; [50-81-7]; murni pereaksi.

*Pemerian* serbuk hablur putih.

*Rotasi jenis* Lebih kurang +22° (larutan 2% dalam air).

**Asam benzoat P**  $C_6H_5COOH$ ; BM 122,12; [65-85-0]; murni pereaksi.

**Asam bis (2-etilheksil)fosfat P** *Bis-(2-etilheksil) fosfat*;  $[CH_3(CH_2)_3CH(C_2H_5)CH_2]_2.HPO_4$ ; BM 322,42; [298-07-7].

Mengandung tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105%  $(C_8H_{17})_2.HPO_4$ .

*Pemerian* Cairan kental, kuning muda.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; mudah larut dalam kloroform dan dalam etil asetat.

*Indeks bias* <1001> Lebih kurang 1,443.

*Bobot jenis* <981> Lebih kurang 0,997.

*Kelarutan dalam pelarut* Larutkan 1 bagian volume dalam 9 bagian volume *etil asetat P*, menghasilkan larutan jernih.

*Warna Larutan* Dalam larutan *kloroform P* (1 dalam 100) memberikan daya serap tidak lebih dari 0,03 pada panjang gelombang 420 nm.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, larutkan dalam 50 ml *dimetilformamida P*, tambahkan 3 tetes larutan *biru timol P* (1 dalam 100) dalam *dimetilformamida P* dan titrasi dengan *natrium metoksida 0,1 N LV* hingga warna biru. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium metoksida 0,1 N setara dengan 32,24 mg  $(C_8H_{17})_2.HPO_4$ .*

**Asam borat P**  $H_3BO_3$ ; BM 61,83; [10043-35-3]; murni pereaksi.

**Asam borat LP** Larutkan 5 g *asam borat P* dalam campuran 20 ml air dan 20 ml *etanol mutlak P*, encerkan dengan *etanol mutlak P* sampai 250 ml.

**Asam bromida P**  $HBr$ ; BM 80,91; [10035-10-6]; murni pereaksi.

**Asam diazobenzensulfonat LP** Ke dalam gelas piala berisi 1,57 g *asam sulfanilat P*, yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam, tambahkan 80 ml air dan 10 ml *asam klorida encer P*, hangatkan pada tangas uap hingga larut. Dinginkan hingga suhu 15° (sebagian asam sulfanilat akan memisah tetapi akan larut kemudian) dan dengan hati-hati tambahkan 6,5 ml larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 10) sambil terus diaduk, kemudian encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Asam 3,5-dinitrobenzoat P**  $C_7H_4N_2O_6$ ; BM 212,1; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur hampir tidak berwarna.

*Suhu lebur* Lebih kurang 206°.

**Asam edetat P**  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ . BM 292,24; [60-00-4]. Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{10}H_{16}N_2O_8$

*Pemerian* Serbuk hablur, putih. Melebur pada suhu lebih dari 220° disertai peruraian.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air; larut dalam larutan alkali hidroksida.

*Baku pembanding* *Asam Edetat BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

*Identifikasi* Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kaliun bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Asam Edetat BPFI*.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 0,2%.

Logam berat <371> Metode III Tidak lebih dari 30 bpj.

Asam nitriiloasetat Tidak lebih dari 0,3 %; lakukan penetapan dengan cara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi seperti tertera pada Kromatografi <931>.

Fase gerak, Larutan tembaga (II) nitrat, Larutan baku persediaan dan Sistem kromatografi. Lakukan seperti tertera pada uji Asam nitriiloasetat dalam Dinatrium Edetat pada monografi Farmakope Indonesia V.

Larutan baku Masukkan 1,0 g zat ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 300 µl Larutan baku persediaan, encerkan dengan Larutan tembaga(II) nitrat sampai tanda, jika perlu sonikasi sampai larut.

Larutan uji Masukkan 1,0 g zat ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan Larutan tembaga(II) nitrat sampai tanda, jika perlu sonikasi sampai larut.

Prosedur Lakukan menurut Prosedur seperti tertera pada Asam nitriiloasetat dalam Dinatrium Edetat: respons puncak asam nitriiloasetat dalam Larutan uji tidak melebihi perbedaan antara respons puncak asam nitriiloasetat dari Larutan baku dan Larutan uji.

Besi Tidak lebih dari 50 bpj. Arangkan 3,0 g zat dengan sempurna, panaskan dalam oven pada suhu 500° hingga sebagian besar karbon hilang. Dinginkan, tambahkan 0,15 ml asam nitrat P dan panaskan pada suhu 500° hingga semua karbon hilang. Larutkan residu dalam 2 ml campuran volume sama asam klorida P dan air, ekstraksi dalam cawan bertutup pada tangas uap selama 10 menit, angkat tutup dan uapkan sampai kering. Larutkan sisa dalam 1 ml asam asetat 1 N dan 20 ml air panas, ekstraksi selama 5 menit di atas tangas uap, dinginkan dan encerkan dengan air hingga 30 ml. Pada 2,0 ml larutan ini tambahkan 2 ml asam klorida P dan encerkan dengan air hingga 50 ml, tambahkan lebih kurang 50 mg amonium persulfat P dan 3 ml larutan amonium tiosianat P (3 dalam 10), campur dan masukkan dalam tabung pembanding warna. Lakukan penetapan dengan cara yang sama terhadap 2,0 ml larutan besi(III) amonium sulfat P yang dibuat dengan melarutkan 43,2 mg besi(III) amonium sulfat P dalam 10 ml asam sulfat 2 N dan encerkan dengan air hingga 1000 ml, tiap ml setara dengan 5 µg besi. Warna larutan uji tidak lebih intensif dari larutan baku besi.

#### Penetapan kadar

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 1,4 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 11 ml natrium hidroksida 1 N, encerkan dengan air sampai tanda, jika perlu dinginkan.

Prosedur Timbang saksama 200 mg kalsium karbonat P yang telah dikeringkan pada suhu 300° selama 3 jam, dinginkan dalam desikator selama 2 jam dan masukkan ke dalam gelas piala 400 ml. Tambahkan 10 ml air, goyang hingga massa menjadi bubuk dan tutup dengan kaca arloji, tambahkan 2 ml asam klorida 3 N dari pipet, goyang sampai larut. Cuci pinggir gelas piala, bagian luar permukaan pipet dan kaca arloji dengan air, encerkan dengan air hingga lebih kurang 100 ml. Sambil diaduk dengan pengaduk magnetik, tambahkan lebih kurang 3 ml Larutan uji dari buret 50 ml. Tambahkan 10 ml natrium hidroksida 1 N dan 300 mg biru hidroksi

naftol P dan lanjutkan titrasi dengan Larutan uji hingga berwarna biru. Hitung jumlah dalam g,  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ , dengan rumus:

$$\frac{292,24}{100,09} \left( \frac{0,1W}{V} \right)$$

292,24 dan 100,09 berturut-turut adalah bobot molekul dari asam edetat dan kalsium karbonat; W adalah bobot kalsium karbonat dalam mg; V adalah volume Larutan uji yang digunakan dalam ml.

Asam (etilendinitrilo) tetraasetat P Gunakan asam edetat P.

Asam 2-etilheksanoat P  $C_8H_{16}O_2$ ; BM 144,2; [149-57-5].  
Pemerian Cairan jernih.

Rotasi optik Lebih kurang 0,91.

Indeks bias Lebih kurang 1,425.

Senyawa sejenis Lakukan penetapan dengan cara Kromatografi gas seperti tertera pada Kromatografi <931>. Suntikkan 1 µl larutan yang dibuat sebagai berikut: Suspensikan 200 mg asam 2-etilheksanoat P dalam 5 ml air, tambahkan 3 ml asam klorida encer P dan 5 ml heksan P, kocok selama 1 menit, biarkan memisah dan gunakan lapisan atas. Lakukan kromatografi seperti tertera pada uji Asam 2-etilheksanoat dan puncak berikutnya dari pelarut tidak lebih besar dari 2,5 % dari luas puncak utama.

Asam fenoldisulfonat LP Cairan jernih yang dapat berubah menjadi cokelat pucat pada penyimpanan. Dibuat dengan memanaskan 3 g fenol P dengan 20 ml asam sulfat P di atas tangas air selama 6 jam atau dapat dengan mengencerkan larutan yang terdapat dalam perdagangan dengan asam sulfat P hingga kadar fenol 15% b/v. Memenuhi uji sebagai berikut:

Sensitifitas terhadap nitrat Uapkan larutan mengandung 0,1 mg kalium nitrat P hingga kering pada cawan porselein di atas tangas air. Pada residu yang telah dingin tambahkan 1 ml pereaksi dan diamkan selama 10 menit. Tambah 10 ml air, dinginkan, tambah 10 ml amonium hidroksida 5 M dan encerkan dengan air hingga 25 ml: terjadi warna kuning yang nyata jika dibandingkan dengan larutan tanpa kalium nitrat dengan perlakuan sama.

Asam flourida P HF; BM 20,01; [7664-39-3]; murni pereaksi.

Asam folat P Gunakan Asam Folat seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

Asam format P HCOOH; BM 46,03; [64-18-6]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 88% HCOOH.

Asam format 96% P Asam format anhidrat P; HCOOH; BM 46,03; murni pereaksi.

**Asam format anhidrat P** Gunakan *asam format* 96% P.

**Asam fosfat P** *Asam ortofosfat P*;  $H_3PO_4$ ; BM 98,00; [7664-38-2]; murni pereaksi.

**Asam fosfomolibdat P** lebih kurang  $20MoO_3 \cdot P_2O_5 \cdot 51H_2O$ ; BM 3939,48; [11104-88-4]; murni pereaksi.

**Asam fosfomolibdat LP** Larutkan 20 g *asam fosfomolibdat P* dalam *etanol P* hingga 100 ml. Saring, gunakan hanya filtrat jernih.

**Asam ftalat P**  $C_8H_6O_4$ ; BM 166,13. [88-99-3]; murni pereaksi.

**Asam heptansulfonat P**  $C_7H_{16}O_3S$ ; BM 180,26; murni pereaksi.

**Asam p-hidroksibenzoat P**  $C_7H_6O_3$ ; BM 138,12; [99-96-7]; Mengandung tidak kurang dari 97 %  $C_7H_6O_3$ .

*Pemerian* Hablur putih.

*Jarak lebur* <1021> 216° dengan rentang 2°.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 700 mg masukkan ke dalam wadah yang sesuai, dan dilarutkan dalam 50 ml *aseton P*. Tambahkan 100 ml air, campur, dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium hidroksida 0,5 N setara dengan 69,06 mg  $C_7H_6O_3$*

**Asam hipofosfit P**, 50 %  $HPH_2O_2$ ; BM 66,00; [6303-21-5]. Mengandung tidak kurang dari 48%  $HPH_2O_2$

*Pemerian* Cairan tidak berwarna hingga kuning pucat.

*Kelarutan* Dapat bercampur dengan air dan dengan etanol.

*Penetapan kadar* Ukur saksama lebih kurang 4 ml, encerkan dengan 25 ml air, tambahkan *merah metil LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 1 N LV*.

*Tiap ml natrium hidroksida 1 N setara dengan 66,00 mg  $HPH_2O_2$*

*Klorida* Tambahkan 0,2 ml pada campuran 10 ml *perak nitrat LP* dan 5 ml *asam nitrat P* dan panaskan hingga tidak lagi terbentuk uap cokelat: tidak terjadi residu putih yang tidak larut.

*Fosfat* Encerkan 1 ml dengan air hingga 50 ml; buat agak alkali dengan *amonias LP*, saring jika terbentuk endapan dan tambahkan pada filtrat 5 ml *magnesias campur LP*: tidak lebih dari sedikit endapan terbentuk dalam 5 menit.

**Asam iodat P**  $HIO_3$ ; BM 175,91; [7782-68-5]; murni pereaksi.

**Asam iodida P**  $HI$ ; BM 127,91; [10034-85-2]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 47,0%  $HI$ .

**Asam kalkonkarboksilat P** *Asam 2-naftalen karboksilat; 3-Hidroksi-4-[(2-hidroksi-4-sulfo-1-naftalen)azo] asam kalkon-3-karboksilat; Kal merah*;  $C_{21}H_{14}N_2O_7S$ ; BM 438,42; murni pereaksi.

**Asam kalkonkarboksilat campur P** Campur 1 bagian *asam kalkonkarboksilat P* dan 99 bagian *natrium klorida P*. Lakukan penetapan sebagai berikut:

*Kepekaan terhadap kalsium* Larutkan 50 mg zat dalam campuran 2 ml *natrium hidroksida 10 N* dan 100 ml air: terjadi warna biru. Tambahkan 1 ml larutan *magnesium sulfat P 1 %* dan 0,1 ml larutan *kalsium klorida P 0,15 %*: terjadi warna ungu. Tambahkan 0,1 ml *dinatrium edetat 0,01 M LV*: terjadi warna biru murni.

**Asam di-10-kamfersulfonat P**  $C_{10}H_{16}O_4S$ ; BM 232,30; [35963-20-3].

*Pemerian* Serbuk atau hablur putih atau hampir putih. Inaktif optik.

*Suhu lebur* <1021> Terurai pada lebih kurang 199°.

**Asam klorida P**  $HCl$ ; BM 36,46; [7647-01-0]; murni pereaksi.

**Asam klorida encer P** 10%; Buat campuran 226 ml *asam klorida P* dengan air secukupnya hingga 1000 ml.

**Asam klorida-etanol LP** Encerkan 85 kali ml *asam klorida P* dengan *etanol P* hingga 1000 ml. Untuk memperoleh larutan x N.

**Asam klorida-metanol LP** Encerkan 85 kali x ml *asam klorida P* dengan *metanol P* hingga 1000 ml. Untuk memperoleh larutan x N.

**Asam klorida bertimah P** Gunakan asam klorida bertimah dengan kadar arsen yang rendah atau buat dengan penambahan 1 ml *timah(II) klorida LP* pada 100 ml *asam klorida P*.

**Asam kloroasetat P**  $C_2H_3ClO$ ; BM 94,50; [79-11-8].

*Pemerian* Hablur mudah melebur, tidak berwarna.

*Suhu lebur* <1021> Lebih kurang 62°.

**Asam kloroplatinat P** *Asam kloroplatinat heksahidrat*;  $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ ; BM 517,90; [18497-13-7]; murni pereaksi.

**Asam kolat P**  $C_{24}H_{40}O_5$ ; BM 408,58. Mengandung tidak kurang dari 98%  $C_{24}H_{40}O_5$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, lempengan tidak berwarna atau putih.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; mudah larut dalam asam asetat glasial; larut dalam etanol dan dalam aseton.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, tambahkan 20 ml air dan 40 ml *etanol P*, tutup dengan kaca arloji, dan panaskan hati-hati di atas tangas uap sampai larut sempurna. Dinginkan, tambahkan 5 tetes *fenolftalein LP*, titrasi dengan *natrium hidroksida*

0,1 N LV hingga warna merah muda stabil selama 15 detik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml natrium hidroksida setara dengan 40,86 mg  $C_{24}H_{40}O_5$

Suhu lebur <1021> Antara 197° dan 202°.

Rotasi jenis <1081> Tidak kurang dari +37°, lakukan penetapan menggunakan larutan dalam etanol P (2 dalam 100).

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 0,5 %; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 140° selama 4 jam.

Sisa pemijaran Tidak lebih dari 0,1 %; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi.

**Asam kromotropat P** Asam 4,5-dihidroksi-2,7-naftaleindisulfonat;  $C_{10}H_8O_8S_2 \cdot 2H_2O$ ; BM 356,33; [148-25-4]; murni pereaksi.

**Asam kromotropat LP** Larutkan 50 mg asam kromotropat P atau garam natriumnya dalam 100 ml asam sulfat P 25 % yang dapat dibuat dengan menambahkan 75 ml asam sulfat P ke dalam 33,3 ml air dengan hati-hati.

**Asam laktat P** Gunakan Asam Laktat seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Asam metafosfat P**  $HPO_3$ ; BM 79,98; [37267-86-0]; murni pereaksi.

**Asam metafosfat-asetat LP** Larutkan 15 g asam metafosfat P dalam 40 ml asam asetat glasial P dan encerkan dengan air hingga 500 ml. Simpan di tempat dingin, gunakan dalam 2 hari.

**Asam metanosulfonat P**  $CH_4O_3S$ ; BM 96,11; [75-75-2]; murni pereaksi.

**Asam  $\alpha$ -metoksifenilasetat P** Asam metoksifenilasetat P;  $C_9H_{10}O_3$ ; BM 166,2; [7021-09-2]; murni pereaksi.

**Asam  $\alpha$ -metoksifenilasetat LP** Larutkan 2,7 g asam  $\alpha$ -metoksifenilasetat P dalam 6 ml tetrametilamonium hidroksida LP dan tambahkan 20 ml etanol mutlak P. Simpan dalam wadah polietilen.

**Asam molibdat P** Asam molibdat 85 %; [7782-91-4]; murni pereaksi.

**Asam nitrat P**  $HNO_3$ ; BM 63,01; [7697-37-2]; murni pereaksi.

**Asam nitrat berasap P** Asam nitrat 90%;  $HNO_3$ ; BM 63,01; [7697-37-2]; gunakan kualitas asam nitrat 90%.

**Asam nitrat encer P** (10%  $HNO_3$ ); [7697-37-2]. Encerkan 105 ml asam nitrat P dengan air hingga 1000 ml.

**Asam nitrotriasetat P**  $N(CH_2COOH)_3$ ; BM 191,14; [139-13-9]; murni pereaksi.

**Asam oksalat P**  $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ ; BM 126,07; [6153-56-6]; murni pereaksi.

**Asam oksalat LP** Larutkan 6,3 g asam oksalat P dalam air hingga 100 ml.

**Asam ortofosfat P** Gunakan asam fosfat P.

**Asam osmat P** Gunakan osmium tetroksida P.

**Asam pentanoat P** Gunakan asam valerat P.

**Asam perklorat P** Asam perklorat P 70%;  $HClO_4$ ; BM 100,46; [7601-90-3]. Mengandung  $HClO_4$  antara 70,0% dan 73,0% (12 N); murni pereaksi.

Pemerian Cairan bersifat korosif.

Bobot jenis Lebih kurang 1,7.

**Asam perklorat P, 60%**  $HClO_4$ ; BM 100,46. Mengandung  $HClO_4$  antara 60,0% - 62,0%.

**Asam pikrat P** 2,4,6-Trinitrofenol; Trinitrofenol;  $C_6H_2(OH)(NO_2)_3$ -1,2,4,6; BM 229,10; [88-89-1]; murni pereaksi.

**Asam pikrat LP** Gunakan trinitrofenol LP.

**Asam pikrolonat P** 3 Metil-4-nitro-1-(p-nitrofenil)-5-pirazolona;  $C_{10}H_8N_4O_5$ ; BM 264,19; [550-74-3]; murni pereaksi.

Pemerian Serbuk hablur kuning atau kuning kecokelatan.

Suhu lebur <1021> Antara 115°-117°.

Sisa pemijaran Dapat diabaikan, gunakan 200 mg zat. Lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi.

Kepekakan Larutkan 25 mg zat dalam 10 ml air hangat yang mengandung 0,1 ml asam asetat glasial P. Pada 1 ml larutan ini ditambahkan 1 ml larutan kalsium klorida P 0,04 % yang sebelumnya telah dipanaskan hingga suhu 60°: terbentuk endapan dalam waktu 5 menit.

**Asam salisilat P** Gunakan Asam Salisilat seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Asam selenit P**  $H_2SeO_3$ ; BM 128,97; [7783-00-8]. Mengandung tidak kurang dari 93 %  $H_2SeO_3$ .

Pemerian Hablur tidak berwarna atau putih, mengembang dalam udara kering dan higroskopik dalam udara lembab.

Kelarutan Larut dalam air dan dalam etanol.

Penetapan kadar Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu bersumbat kaca,

dan larutkan dalam 50 ml air. Tambahkan 10,0 ml larutan kalium iodida P (3 dalam 10) dan 5 ml asam klorida P, campur, tutup labu dan biarkan selama 10 menit. Encerkan dengan 50 ml air, tambahkan 3 ml kanji LP, dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 N LV hingga warna tidak lagi berubah; kemudian titrasi dengan iodium 0,1 N LV hingga warna biru. Kurangi volume larutan iodium 0,1 N dari volume natrium tiosulfat 0,1 N untuk memperoleh volume natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan asam selenit.

Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 3,225 mg  $H_2SeO_3$

**Zat tak larut** Larutkan 1 g dalam 5 ml air: larut sempurna dan jernih.

**Sisa pemijaran** Tidak lebih dari 1,0 mg (0,01%); lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Perekaksi, menggunakan 10 g zat.

**Selenat dan sulfat** Larutkan 500 mg dalam 10 ml air dan tambahkan 0,1 ml asam klorida P dan 1 ml barium klorida LP: tidak terjadi kekeruhan atau tidak terbentuk endapan selama 10 menit.

**Asam silikat P**  $SiO_2 \cdot xH_2O$  (anhidrat); BM 60,08; [1343-98-2].

**Pemerian** Serbuk putih, amorf.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air dan dalam asam, larut dalam larutan alkali kuat panas.

**Sisa pemijaran** Tidak kurang dari 80,0 %; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Perekaksi.

**Zat tak menguap dengan asam flourida** Tidak lebih dari 0,2 %; panaskan 500 mg dengan 1 ml asam sulfat P dan 10 ml asam flourida P dalam krus platina hingga kering, dan pijarkan sampai bobot tetap: bobot residu tidak lebih dari 1,0 mg.

**Klorida** Tidak lebih dari 50 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Perekaksi, menggunakan 1 g zat.

**Sulfat** Tidak lebih dari 50 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Perekaksi dengan mendidihkan 2 g zat dengan 20 ml larutan asam klorida P (1 dalam 40), saring, netralkan filtrat dengan amonia LP, dan encerkan dengan air hingga 20,0 ml. 10,0 ml larutan menunjukkan tidak lebih dari 0,1 mg  $SO_4$ .

**Logam berat** Tidak lebih dari 30 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Perekaksi dengan mendidihkan 2,5 g dengan 50 ml larutan asam klorida P (1 dalam 10) selama 5 menit, saring selagi panas, dan uapkan filtrat di atas tangas uap sampai kering. Ambil residu, masukkan dalam 20 ml larutan asam klorida P (1 dalam 500), ekstraksi selama 5 menit, dinginkan, tambahkan air hingga 100 ml, dan saring. Pada 40 ml filtrat tambahkan 10 ml hidrogen sulfida LP: warna yang dihasilkan tidak lebih gelap dari yang diperoleh dengan menambahkan 10 ml hidrogen sulfida LP pada perbandingan yang mengandung 0,03 mg Pb.

**Besi <331>** Tidak lebih dari 30 bpj; pada 20 ml filtrat yang diperoleh dari uji Logam berat tambahkan 1 ml asam klorida P, dan encerkan dengan air hingga 47 ml: larutan menunjukkan tidak lebih dari 0,015 mg Fe.

**Asam sitrat P** Gunakan Asam Sitrat Monohidrat seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Asam sitrat anhidrat P**  $C_6H_8O_7$ ; BM 192,12; [77-92-9]; murni pereaksi.

**Asam sulfamat P**  $HSO_3NH_2$ ; BM 97,09; [5329-14-6]; murni pereaksi.

**Asam sulfanilat P**  $p-NH_2C_6H_4SO_3H \cdot H_2O$ ; BM 191,21; [121-57-3]; murni pereaksi.

**Asam sulfat P**  $H_2SO_4$ ; BM 98,08; [7664-93-9]; murni pereaksi. Mengandung 98 %  $H_2SO_4$ .

**Asam sulfat LP** Tambahkan sejumlah asam sulfat P yang telah diketahui kadarnya ke dalam air secukupnya agar kadar akhir  $H_2SO_4$  antara 94,5 % - 95,5 %.

[Catatan Karena kadar asam dapat berubah jika dibiarkan atau jika sering digunakan, kadar harus seringkali ditetapkan, dan jika kadar larutan lebih dari 95,5 % atau kurang dari 94,5 % harus dibuang.]

**Asam sulfat berasap P**  $H_2SO_4$  bebas  $SO_3$ ; [8014-95-7]. Kandungan nominal 15%, 20% atau 30% bebas  $SO_3$ ; murni pereaksi (mengandung antara 15,0% - 18,0 %, antara 20,0 % - 23,0 % atau antara 30,0 % - 33,03% bebas  $SO_3$ ).

**Asam sulfat bebas nitrogen P**  $H_2SO_4$ ; BM 98,08; [7664-93-9]; murni pereaksi.

**Asam sulfat encer P** (10%) Tambahkan secara hati-hati 57 ml asam sulfat P ke dalam lebih kurang 100 ml air, dinginkan hingga suhu ruang dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Asam sulfat etanol LP** Larutan yang dibuat dengan cara menambahkan hati-hati 54 kali x ml asam sulfat P kepada volume sama etanol P 96% dan encerkan dengan etanol P 96% hingga 1000 ml, hingga diperoleh larutan dengan kadar x M.

Jika diperlukan asam sulfat etanol dalam persen, dianjurkan menggunakan asam sulfat diencerkan dengan etanol P 96% hingga dihasilkan persentase v/v asam sulfat yang diperlukan.

**Asam sulfat-formaldehida LP** Campurkan 2 ml formaldehida LP dengan 100 ml asam sulfat P (96%).

**Asam sulfida P** Gunakan hidrogen sulfida P.

**Asam sulfit P**  $H_2SO_3$ ; BM 82,08; [7782-99-2]; murni pereaksi. Larutan belerang dioksida P dalam air.

**Asam sulfosalisilat P**  $C_6H_3(COOH)(OH)(SO_3H)-1,2,5 \cdot 2H_2O$ ; BM 254,22; [97-05-2]; murni pereaksi.

**Asam tanat P Tanin P** [1401-55-4]; murni pereaksi.

**Asam tanat LP** Larutkan 1 g *asam tanat P* dalam 1 ml *etanol P*, dan encerkan dengan air hingga 10 ml. Larutan dibuat segar.

**Asam tartrat P**  $H_2C_4H_4O_6$ ; BM 150,09; murni pereaksi.

**Asam tioglikolat P**  $HSCH_2COOH$ ; BM 92,12; [68-11-1].

*Pemerian* Cairan tidak berwarna atau hampir tidak berwarna; bau tidak enak yang kuat.

*Kelarutan* Dapat bercampur dengan air; larut dalam etanol.

*Kepekaan Campur* 1 ml dengan 2 ml *amonium hidroksida P*, encerkan dengan air hingga 20 ml. Tambahkan 1 ml larutan ini ke dalam campuran 20 ml air dan 0,1 ml enceran *besi(III) klorida LP* (1 dalam 100) dan tambahkan 5 ml *amonia LP*: terjadi warna merah muda terang.

**Asam p-toluat P**  $CH_3C_6H_4COOH$ ; BM 136,15; [99-94-5]. Mengandung tidak kurang dari 98 %  $CH_3C_6H_4COOH$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air panas, sangat mudah larut dalam etanol dan dalam eter.

*Jarak lebur*  $181 \pm 2^\circ$ .

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 650 mg zat, masukkan ke dalam wadah yang sesuai, larutkan dalam 125 ml *etanol P*, tambahkan 25 ml air dan kocok. Titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium hidroksida 0,5 N setara dengan 68,07 mg  $C_8H_8O_2$*

**Asam p-toluensulfonat P**  $CH_3C_6H_4SO_3H \cdot H_2O$ ; BM 190,22; [6192-52-2]; murni pereaksi.

**Asam p-toluensulfonat LP** Larutkan 2 g *asam p-toluensulfonat P* dalam 10 ml campuran 7 bagian *aseton P* dan 3 bagian air.

**Asam trikloroasetat P**  $CCl_3COOH$ ; BM 163,39; [76-03-9]; murni pereaksi.

**Asam valerat P** *asam pentanoat P*;  $C_5H_{10}O_2$ ; BM 102,13; [109-52-4]. Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $C_5H_{10}O_2$ .

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan dalam wadah yang sesuai, tambahkan 30 ml air, campur. Tambah 40 ml air, campur. Tambah *fenoltalein LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*.

*Tiap ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 10,21 mg  $C_5H_{10}O_2$*

**Asetaldehida P** *Etanal P*, *asetat aldehida P*;  $CH_3CHO$ ; BM 44,05; [75-07-0]; murni pereaksi.

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Kelarutan* Bercampur dengan air dan dengan etanol.

**Asetat aldehida P** Gunakan *asetaldehida P*.

**Asetilaseton P** *2,4-Pentanadion P*, *Diasetilmetan P*;  $C_5H_8O_2$ ; BM 100,12; [123-54-6]; Mengandung tidak kurang dari 98 %  $C_5H_8O_2$ .

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna hingga kuning lemah, mudah terbakar.

*Kelarutan* Larut dalam air, bercampur dengan etanol, dengan kloroform, dengan aseton, dengan eter dan dengan asam asetat glasial.

*Indeks bias*  $<1001>$  Antara 1,4505 - 1,4525; lakukan penetapan pada suhu  $20^\circ$ .

*Penetapan kadar* Lakukan *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi*  $<931>$ . Suntikkan ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom baja tahan karat 3 mm x 1,83 m berisi bahan pengisi 10 % fase diam *G* pada partikel penunjang *SIA*. Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada  $250^\circ$  dan  $310^\circ$ . Atur suhu kolom dari  $50^\circ$  hingga  $220^\circ$  dengan kenaikan kecepatan  $8^\circ$  per menit. Gunakan helium sebagai gas pembawa.

**Asetilaseton LP** Pada 100 ml larutan *natrium karbonat anhidrat P* 13,3 %, tambahkan 4 ml *asetilaseton P* dan kocok sampai larut. Larutan dibuat segar sebelum digunakan.

**Asetil klorida P**  $CH_3COCl$ ; BM 78,50; [75-36-5]; murni pereaksi.

*Pemerian* Cairan jernih tidak berwarna; bau kuat menusuk; terurai dalam air dan etanol.

*Kelarutan* Bercampur dengan benzen dan dengan kloroform.

*Bobot jenis*  $<981>$  Lebih kurang 1,1 g.

**N-Asetil-L-tirosin etil ester P**  $C_{13}H_{17}NO_4$ ; BM 251,28; lakukan penetapan kesesuaian bahan seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam *Kimotripsin*.

**Aseton P**  $CH_3COCH_3$ ; BM 58,08; [67-64-1]; murni pereaksi.

**Asetonitril P** *Metil sianida P*;  $CH_3CN$ ; BM 41,05; [75-05-8]; murni pereaksi.

**Asetonitril fosfat LP** [*Catatan Komposisi ini sangat kritis, prosedur harus diikuti dengan tepat.*] Tambahkan 69,99 g *natrium fosfat monobasa 0,1 M* yang sudah diatur pada pH 2,0 dengan *asam ortofosfat P* pada 23,96 g *asetonitril LC P*.

**Asetonitril LC P** Asetonitril yang digunakan untuk kromatografi cair mengandung tidak kurang dari 99,8%  $C_2H_3N$ , dan memenuhi syarat transmitans tidak kurang dari 98% pada 240 nm, gunakan air pada sel pembeding.



**Atropin sulfat P**  $C_{34}H_{46}N_2O_6 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ ; BM 694,84; [5908-99-6].

*Pemerian* Serbuk hablur, hablur tidak berwarna atau putih.

*Suhu lebur* <1021> Lebih kurang 195°.

**Azo violet P** Gunakan *Lembayung azo P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Barbital natrium P** *Barbiton natrium P*; *Natrium 5,5-dietil-barbiturat*;  $C_8H_{11}N_2NaO_3$ ; BM 206,2; [144-02-5]; murni pereaksi.

**Barbiton natrium P** Gunakan *barbital natrium P*.

**Barium hidroksida P**  $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ ; BM 315,46; [12230-71-6]; murni pereaksi.

**Barium hidroksida LP** Larutan jenuh *barium hidroksida P* dalam air yang baru dididihkan. Larutan dibuat segar.

**Barium karbonat P**  $BaCO_3$ ; BM 197,3; murni pereaksi.

**Barium klorida P**  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ ; BM 244,26; [10326-27-9]; murni pereaksi.

**Barium klorida LP** Larutkan 12 g *barium klorida P* dalam air hingga 100 ml.

**Barium nitrat P**  $Ba(NO_3)_2$ ; BM 261,34; [10022-31-8]; murni pereaksi.

**Barium nitrat LP** Larutkan 6,5 g *barium nitrat P* dalam air hingga 100 ml.

**Barium sulfat P**  $BaSO_4$ ; BM 233,4; murni pereaksi.

**Belerang P** Gunakan *Belerang Endap* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Belerang dioksida P**  $SO_2$ ; BM 64,06; [7446-09-5]. Mengandung tidak kurang dari 97,0 % volume  $SO_2$ .

*Pemerian* Berupa gas, tidak berwarna; tidak mudah terbakar; berbau gas seperti belerang terbakar. Pada tekanan tinggi terkondensasi berupa cairan tidak berwarna dan mendidih pada suhu 10°, dengan bobot jenis 1,5.

*Kelarutan* Pada suhu 20° dan tekanan normal, lebih kurang 36 bagian larut dalam 1 bagian air dan 114 bagian larut dalam 1 bagian etanol. Larut dalam eter dan dalam kloroform.

[Catatan *Belerang dioksida beracun, banyak digunakan dalam bidang farmasi dalam bentuk gas dan yang tertulis di bawah ini dimaksudkan untuk kegunaan tersebut. Tetapi oleh karena selalu dikemas di bawah tekanan, maka spesifikasi berikut ini ditujukan untuk pengujian zat dalam bentuk cairan.*]

*Air* <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 2,0 %; lakukan penetapan dengan hati-hati untuk menghindari

penyerapan uap air; gunakan 3 g zat (lebih kurang 2,1 ml) masukkan ke dalam labu yang sesuai dan tambahkan 20 ml *piridina anhidrat P*.

*Sisa tidak menguap* Tidak lebih dari 25 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut; Masukkan 300 g zat (lebih kurang 209 ml) ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang telah ditara. Biarkan cairan menguap dengan sendirinya di dalam lemari asam. Apabila penguapan telah selesai, alirkan udara kering yang telah disaring ke dalam labu sampai bau belerang dioksida hilang, timbang labu. Tidak lebih dari 7,5 mg.

*Asam sulfat* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut; Ke dalam labu yang mengandung sisa yang diperoleh pada uji *Sisa yang tidak menguap*, tambahkan 25 ml air, yang sebelumnya telah dinetralkan terhadap *merah metil LP*. Goyang labu dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,10 N*; diperlukan tidak lebih dari 1,3 ml.

*Penetapan kadar* Kumpulkan 100,0 ml gas belerang dioksida di atas raksa, dan catat suhu contoh dan tekanan di atasnya. Tambahkan secara perlahan-lahan 50,0 ml *natrium hidroksida 0,1 N* ke dalam ruang udara di atas raksa dan serapkan contoh ke dalam larutan dengan cara mengocok. Apabila penyerapan telah sempurna, pindahkan larutan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml dan tambahkan 3 ml *kanji LP* dan titrasi dengan *iodum 0,1 N LV* sampai larutan berwarna biru pucat.

*Tiap ml iodum 0,1 N*

*setara dengan 1,094 ml  $SO_2$  pada suhu 0° dan tekanan 760 mm Hg*

*Wadah dan penyimpanan* Dalam tabung silinder.

**Benzaldehida P**  $C_7H_6O$ ; BM 106,12; [100-52-7]. Mengandung tidak kurang dari 98 %  $C_7H_6O$ .

*Pemerian* Cairan tidak berwarna, menyerupai minyak amandel; membiaskan cahaya dengan kuat.

*Kelarutan* Larut dalam air; bercampur dengan etanol, dengan eter, dengan minyak menguap dan dengan minyak lemak.

*Bobot jenis* <981> Antara 1,041 dan 1,046.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,5540 dan 1,5465; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Asam hidrosianat* Kocok 0,5 ml dengan 5 ml air, tambahkan 0,5 ml *natrium hidroksida LP* dan 0,1 ml *besi(II) sulfat LP* dan hangatkan hati-hati. Tambahkan *asam klorida P* sedikit berlebih; tidak terjadi warna biru kehijauan atau terbentuk endapan biru dalam waktu 15 menit.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 1 ml dalam botol timbang bersumbat kaca yang telah ditara. Longgarkan sumbat, pindahkan botol timbang dan isinya ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml berisi 25 ml larutan *hidroksilamina hidroklorida* yang dibuat dengan melarutkan 34,7 g *hidroksilamina hidroklorida P* dalam 160 ml air, tambahkan *etanol P* hingga 1000 ml, netralkan dengan penambahan *natrium hidroksida LP* dan indikator *biru bromfenol LP*. Bilas bagian dalam labu dengan 50 ml pereaksi ini. Diamkan 10 menit,

tambahkan 1 ml *biru bromofenol LP*, dan titrasi asam klorida yang dibebaskan dengan *natrium hidroksida 1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium hidroksida 1 N setara dengan 106,1 mg C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O*

**Benzalkonium klorida P** Gunakan *Benzalkonium Klorida* seperti tertera monografi Farmakope Indonesia V.

**Benzen P** C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>; BM 78,11; [71-43-2]; murni pereaksi.

**Benzen 1,3-diol P** Gunakan *resorsinol P*.

**Benzensulfonil klorida P** C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>SO<sub>2</sub>Cl; BM 176,62; [98-09-9].

*Pemerian* Cairan seperti minyak, tidak berwarna. Membeku pada suhu 0°.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air dingin; larut dalam etanol dan dalam eter.

*Jarak lebur* <1021> Antara 14° dan 17°.

*Jarak didih* Antara 251° dan 252°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Benzil benzoat P** C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>.C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; BM 212,3

*Pemerian* Cairan seperti minyak.

*Suhu lebur* <1021> Lebih kurang 20°.

*Bobot per ml* <991> Lebih kurang 1,12 g.

**Benziltrimetilamonium klorida P**

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl; BM 185,69; [56-93-9]. Tersedia sebagai larutan 60%, mengandung 59,5% sampai 60,5%.

*Pemerian* Larutan, jernih, tidak berwarna, atau tidak lebih dari kuning lemah.

*Penetapan kadar* Pipet 2 ml ke dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan air sampai tanda. Pipet 20 ml larutan ke dalam labu Erlenmeyer 125 ml, tambahkan lebih kurang 30 ml air, kemudian 0,25 ml *diklorofluoresein LP* dan titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV*.

*Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 18,57 mg C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl*

**Benzofenon P** (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>CO; BM 182,22; [119-61-9].

*Pemerian* Serbuk hablur putih.

*Jarak lebur* <1021> Antara 47° dan 49°.

**Benzoil klorida P** C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COCl; BM 140,57; [98-88-4]; murni pereaksi.

**Benzoil peroksida P** C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>; BM 242,2.

*Pemerian* Granul putih atau hampir putih; setelah dikeringkan suhu lebur lebih kurang 104°. Untuk keamanan benzoil peroksida disimpan di tempat lembab dengan lebih kurang 23% b/b air.

**Besi tereduksi P** Fe; BM 55,847. Mengandung tidak kurang dari 93 % Fe.

*Pemerian* Serbuk halus abu-abu.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air, larut dalam asam encer. Jika terpapar di udara dan lembab akan teroksidasi.

*Zat tak larut dalam asam sulfat* Tidak lebih dari 0,5 %. Pada 1 g zat tambahkan 25 ml *asam sulfat encer P* dan hangatkan di atas tangas uap hingga gas yang terbentuk hilang, saring. Kumpulkan residu yang tak larut pada saringan, cuci dengan *asam sulfat P 2%*, kemudian dengan air, keringkan pada 105° dan timbang.

*Nitrogen* Tidak lebih dari 30 bpj. Ke dalam labu destilasi berisi 2 ml *asam sulfat P* dan 30 ml air tambahkan sejumlah 1,5 g zat, dinginkan dan tambahkan 20 ml air dan 50 ml larutan *natrium hidroksida P* (4 dalam 10). Destilasi perlahan-lahan lebih kurang 40 ml ke dalam 5 ml air yang mengandung 1 tetes *asam klorida encer P*. Pada destilat tambahkan 2 ml *natrium hidroksida LP* dan 2 ml *raksa(II) kalium iodida alkalis LP*: warna yang terjadi tidak lebih gelap dari larutan yang diperoleh dari 0,12 mg *amonium klorida P* (0,03 mg N) dan 500 mg zat uji yang diperlakukan sama dengan cara diatas.

*Sulfida* Ke dalam labu 150 ml yang berisi 1 g zat tambahkan 20 ml *asam sulfat encer P*: gas yang terbentuk tidak membuat kertas *timbal(II) asetat P* menjadi hitam dalam 2 menit.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 300 ml, tambahkan 50 ml *asam sulfat encer P* dan tutup dengan penutup berkatup yang dibuat dengan memasukkan pipa kaca yang dihubungkan dengan sepotong kecil pipa karet dengan celah pada sisinya dan sebuah pengaduk kaca yang dimasukkan dalam ujung lainnya, yang dirancang agar gas dapat dibebaskan tetapi udara tidak dapat masuk ke dalamnya. Panaskan di atas tangas uap hingga besi larut. Dinginkan larutan, encerkan dengan 50 ml air bebas karbon dioksida, tambahkan 2 tetes *ortofenantrolin LP* dan titrasi dengan *serium(IV) sulfat 0,1 N LV* hingga warna merah berubah menjadi biru lemah.

*Tiap ml serium(IV) sulfat 0,1 N setara dengan 5,585 mg besi*

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat

**Besi(III) amonium sitrat P** Mengandung Fe antara 16,5% dan 18,5%.

*Pemerian* Sisik tipis tembus cahaya atau butiran berwarna merah atau serbuk kuning kecokelatan; meleleh dan terurai oleh cahaya.

*Kelarutan* Sangat mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

*Besi sitrat* Larutkan 250 mg zat dalam 25 ml air tambahkan 1 ml *kalium heksasianoferrat(II) LP*: tidak terbentuk endapan biru.

*Tartrat* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air; tambahkan 1 ml *kalium hidroksida LP*, didihkan untuk mengendapkan *besi(III) hidroksida*, jika perlu tambahkan lagi *kalium hidroksida LP*, untuk mengendapkan semua besi, saring dan filtrat dibuat

sedikit asam dengan *asam asetat glasial P*. Tambahkan 2 ml *asam asetat glasial P*, dan biarkan selama 24 jam: tidak terbentuk endapan berupa hablur putih.

*Timbal <401>* Tidak lebih dari 20 bpj. Larutkan 1,0 g zat dalam 30 ml air, tambahkan 5 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 21), dididihkan perlahan-lahan selama 5 menit: 20 ml larutan menunjukkan tidak lebih dari 0,008 mg Pb.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, larutkan dalam 25 ml air dalam labu bersumbat kaca, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan 4 g *kalium iodida P*, sumbat labu, dan biarkan dalam gelap selama 15 menit. Tambahkan 100 ml air, dan titrasi iodum bebas dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV* dengan penambahan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir titrasi. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N  
setara dengan 5,585 mg Fe*

**Besi(II) amonium sulfat P**  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; BM 392,14; [7783-85-9]; murni pereaksi. Simpan terlindung dari cahaya.

**Besi(III) amonium sulfat P**  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ; BM 482,19; [7783-83-7]; murni pereaksi.

**Besi(III) amonium sulfat LP** Larutkan 8 g *besi(III) amonium sulfat P* dalam air hingga 100 ml.

**Besi(III) klorida P** *Feri klorida P*;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; BM 270,29; [10025-77-1]; murni pereaksi.

**Besi(III) klorida LP** Larutkan 9 g *besi(III) klorida P* dalam air hingga 100 ml.

**Besi(III) klorida heksahidrat P** Gunakan *Besi(III) klorida P*.

**Besi(III) nitrat P**  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ; BM 404,0; [10421-48-4]; murni pereaksi.

**Besi(III) nitrat LP** Larutan *besi (III) nitrat P 0,1%* dalam *asam nitrat 0,1%*.

**Besi(II) sulfat P**  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; BM 278,01; [7782-63-0]; murni pereaksi.

**Besi(II) sulfat LP** Larutkan 8 g hablur jernih *besi(II) sulfat P* dalam lebih kurang 100 ml air yang baru dididihkan dan didinginkan. Larutan dibuat segar.

**Betametason P** Gunakan *Betametason* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Betanaftol P** Gunakan *2-naftol P*.

**Betanaftol LP** Gunakan *2-naftol LP*.

**Bifenil P**  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}$ ; BM 154,21; [92-52-4].

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, tidak berwarna sampai putih.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam eter.

*Jarak lebur <1021>* Antara 68° dan 72°.

*Titik didih* Lebih kurang 254°.

**2,2'-Bipiridina P**  $\alpha, \alpha'$ -Dipiridil P;  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$ ; BM 156,18; [366-18-7].

*Pemerian* Serbuk hablur, putih atau merah muda.

*Kelarutan* Larut dalam air dan dalam etanol.

*Suhu lebur <1021>* Lebih kurang 69°.

*Titik didih* Lebih kurang 272°.

*Kepekaan*

*Larutan A* Larutkan 350 mg *besi(III) amonium sulfat P* dalam 50 ml air yang mengandung 1 ml *asam sulfat P*, dan tambahkan 500 mg *hidrazin sulfat P*, tambahkan air hingga 500 ml. Encerkan larutan ini dengan air dengan perbandingan 1 dalam 100 ml.

*Larutan B* Larutkan 8,3 g *natrium asetat P* dan 12 ml *asam asetat glasial P* dalam air hingga 100 ml. Tambahkan 1 ml larutan (1 dalam 1000) ke dalam campuran 10 ml air, 1 ml *Larutan A* dan 1 ml *Larutan B*: segera terjadi warna merah muda.

*Kelarutan* 100 mg zat larut sempurna dalam 10 ml air.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,2%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Biru asam 90 P** *CI 42655*; *Biru berlin koomasi G*;  $\text{C}_{47}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S}_2$ ; BM 854.

*Pemerian* Serbuk cokelat tua dengan lembayung kemilau; beberapa partikel mempunyai kilat logam.

*Identifikasi* Serapan jenis A(1%, 1 cm) dari larutan 0,001% dalam larutan *Dapar fosfat pH 7,0* pada 577 nm: tidak kurang dari 500.

**Biru bromofenol P** Gunakan *Biru bromofenol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Biru bromofenol LP** Larutkan 100 mg *biru bromofenol P* dalam 100 ml *etanol encer P*, saring jika perlu.

**Biru bromokresol P** Gunakan *Biru bromokresol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Biru bromokresol LP** Gunakan *Hijau bromokresol LP*.

**Biru bromotimol P** Gunakan *Biru bromotimol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator* dalam *Pereaksi, Indikator dan Larutan*.

**Biru bromotimol LP** Larutkan 100 mg *biru bromotimol P* dalam 100 ml *etanol encer P*, saring jika perlu.

**Biru dekstran 2000 P** Dibuat dari dekstran yang mempunyai bobot molekul rata-rata lebih kurang  $2 \times 10^6$  dengan penambahan kromofor polisiklik yang memberikan warna biru. Tingkat substitusinya adalah 0,017. Dekstran beku-kering larut mudah dan sempurna

dalam larutan *natrium klorida P* 0,9%. Memenuhi uji serapan cahaya sebagai berikut: larutan 0,1% b/v dalam *dapar fosfat pH 7* menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 280 nm.

**Biru hidroksi naftol LP** Gunakan *Gerusan biru hidroksi naftol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Biru metilena P**  $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$ ; BM 373,90; [61-73-4]. Mengandung tidak kurang dari 85%.

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, warna hijau gelap, mengkilat seperti perunggu.

*Kelarutan* Satu gram zat larut dalam 25 ml air dan lebih kurang 65 ml etanol. Larut dalam kloroform.

**Biru metilena LP** Larutkan 125 mg *biru metilena P* dalam 100 ml *etanol P*, encerkan dengan *etanol P* hingga 250 ml.

**Biru metiltimol P** [*3H-2,1-Benzosatiol-3-ilidinbis(6-hidroksi-5-isopropil-2-metil-m-fenilin)metilennitrilo*] *tetra- asam asetat S,S-garam tetranatrium dioksida*;  $C_{37}H_{40}N_2Na_4O_{13}S$ ; BM 845; [1945-77-3]; murni pereaksi.

*Perubahan warna* Dengan kalsium dalam larutan alkali memberikan warna biru, dengan dinatrium edetat berlebih larutan berwarna kelabu.

**Biru metiltimol P, Campuran** Campuran yang terdiri dari 1 bagian *biru metiltimol P* dan 100 bagian *kalium nitrat P*.

**Biru oraset B P** Gunakan *Biru oraset B P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Biru oraset B LP** Larutan *Biru oraset B P* dalam *asam asetat glasial P* (1 dalam 200).

**Biru tetrazolium P** (*3,3'-(3,3'-Dimetoksi[1,1'-bifenil]-4,4'-diil)bis[2,5-difenil-2H-tetrazolium]* diklorida);  $C_{40}H_{32}C_{12}N_8O_2$ ; BM 727,64; [1871-22-3]

*Pemerian* Hablur kuning jeruk.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; mudah larut dalam kloroform dan dalam metanol; tidak larut dalam aseton dan dalam eter.

*Kelarutan dalam metanol* Larutkan 1 g zat dalam 100 ml *metanol P*; jernih.

*Warna* Ukur serapan larutan 1 g zat dalam 100 ml *metanol P* pada panjang gelombang 525 nm, gunakan air sebagai blangko: serapan tidak lebih dari 0,20.

*Daya serap molar* <1191> Daya serap molar dalam *metanol P* pada panjang gelombang 525 nm tidak kurang dari 50.000.

*Uji kesesuaian*

*Larutan baku* Timbang saksama sejumlah *Hidrokortison BPF I* yang sebelumnya dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam, larutkan dalam *etanol P* hingga kadar 10 µg per ml.

*Prosedur* Pipet 10 ml, 15 ml dan 20 ml *Larutan baku* masing-masing ke dalam labu Erlenmeyer bertutup kaca 50 ml. Tambahkan 10 ml dan 5 ml *etanol P* berturut-turut pada labu Erlenmeyer berisi 10 ml dan 15 ml *Larutan baku*. Goyang sampai bercampur. Pada masing-masing labu dan labu keempat yang berisi 20 ml *etanol P*, tambahkan 2,0 ml larutan yang dibuat dengan cara melarutkan 50 mg *biru tetrazolium P* dalam 10 ml *etanol P*, campur. Kemudian tambahkan 2,0 ml larutan yang dibuat dengan mengencerkan 1 ml *tetrametilamonium hidroksida LP* dengan *etanol P* hingga 10 ml. Campur dan diamkan di tempat gelap selama 90 menit dan tetapkan serapan ketiga *Larutan baku* pada panjang gelombang 525 nm dengan menggunakan blangko larutan pada labu keempat. Buat kurva kalibrasi dengan serapan pada sumbu Y dan kadar hidrokortison pada sumbu X: serapan masing-masing larutan sebanding dengan kadar dan serapan larutan yang mengandung 200 µg hidrokortison tidak kurang dari 0,50.

**Biru tetrazolium LP** Larutkan 500 mg *biru tetrazolium P* dalam *etanol P* hingga 100 ml.

**Biru tetrazolium alkalis LP** Segera sebelum digunakan, campur 1 bagian larutan *biru tetrazolium P* 0,2% dalam *metanol P* dengan 3 bagian larutan *natrium hidroksida P* 12% dalam *metanol P*.

**Biru timol P** Gunakan *Biru timol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Biru timol LP (A)** Larutkan 100 mg *biru timol P* dalam 2,15 ml *natrium hidroksida 0,1 M* dan 20 ml *etanol P* 96%. Setelah larut sempurna, tambahkan air hingga 100 ml. Lakukan uji kepekaan sebagai berikut: Campur 0,1 ml dan 100 ml *air bebas karbondioksida P* yang telah ditambah 0,2 ml *natrium hidroksida 0,02 M LV*: larutan berwarna biru. Untuk mengubah warna larutan menjadi kuning, diperlukan *asam klorida 0,02 M LV*, tidak lebih dari 0,1 ml.

**Biru timol LP** Larutkan 100 mg *biru timol P* dalam 100 ml *etanol P*, saring jika perlu.

**Biru toluidina P** ( $C_{15}H_{16}ClN_3S$ ) $_2 \cdot ZnCl_2$ ; BM 747,95; [6586-04-5].

**Biru toluidina LP** Larutkan 15 mg *biru toluidina P* dalam 1 ml *etanol P* dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Bismut oksinitrat P** Gunakan *bismut subnitrat P*.

**Bismut subnitrat P** *Bismut(III) nitrat basa*;  $Bi_5O(OH)_9(NO_3)_4$ ; BM 1461,99; [1304-85-4] Mengandung tidak kurang dari 79,0%  $Bi_2O_3$ . Gunakan *Bismut subnitrat* seperti tertera pada monografi *Farmakope Indonesia V*.

**Bis(trimetilsilil)asetamida P** (*N,O-Bis(trimetilsilil)-asetamida-BSA*);  $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ ; BM 203,43; [10416-59-8]. Mengandung tidak kurang dari 90%  $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ .

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna. Segera terhidrolisis jika terpapar udara lembab. Lakukan penanganan di bawah gas nitrogen dan simpan di tempat sejuk.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,4150 dan 1,4170; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan sejumlah zat ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor penghantar panas dan kolom baja tahan karat 3 mm x 1,83 m berisi bahan pengisi 5% fase diam *G1* dengan partikel penyangga *SIA*. Pertahankan suhu injektor pada 160°. Atur suhu kolom dari 90° hingga 160° dengan kecepatan kenaikan suhu 4° per menit. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa. Dengan kondisi ini akan diperoleh waktu retensi lebih kurang 15 menit.

**Bis(trimetilsilil)trifluoroasetamida P** *BSTFA*  $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ ; BM 257,40; [25561-30-2]. Mengandung tidak kurang dari 98%  $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ .

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna. Segera terhidrolisis jika terpapar udara lembab. Simpan di tempat sejuk.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,3820 dan 1,3860; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan zat ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor penghantar panas dan kolom baja tahan karat 3 mm x 1,83 m berisi bahan pengisi 5% fase diam *G1* dengan partikel penyangga *SIA*. Pertahankan suhu injektor pada 170°. Atur suhu kolom dari 70° hingga 140° dengan kecepatan kenaikan suhu 4° per menit. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa. Dengan kondisi ini akan diperoleh waktu retensi zat lebih kurang 15 menit.

**Brom P**  $\text{Br}_2$ ; BM 159,8

*Pemerian* Cairan merah tua, berat dan berasap, sangat korosif terhadap kulit.

*Bobot per ml* Lebih kurang 3,1 g.

*Pembuatan larutan brom 0,05 M*; larutkan 3 g kalium bromat *P* dalam sejumlah tertentu air hingga 1000 ml. Larutan encer harus dibuat dengan menggunakan sejumlah tertentu pereaksi dengan perbandingan yang sesuai atau dengan pengenceran yang tepat.

**Brom LP** Larutkan 30 g brom *P* dan 30 g kalium bromida *P* dalam sejumlah air hingga 100 ml.

**p-Bromoanilin P**  $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$ ; BM 172,02; [106-40-1]. Mengandung tidak kurang dari 98%  $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$ .

*Pemerian* Hablur putih hingga putih kotor.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam eter.

*Jarak lebur* <1021> Antara 60° dan 65°, dengan rentang 2°.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 650 mg zat, masukkan dalam wadah yang sesuai, dan larutkan dalam 50 ml asam asetat glasial *LP*. Tambahkan kristal violet *LP*, dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 *N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam perklorat 0,1N setara dengan 17,20 mg  $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$*

**p-Bromoanilin LP** Tambahkan 8 g *p-bromoanilin P* ke dalam campuran 380 ml asam asetat glasial *P* jenuh tiourea *P*, 10 ml larutan natrium klorida *P* (1 dalam 5), 5 ml larutan asam oksalat *P* (1 dalam 20), dan 5 ml larutan natrium fosfat dibasa *P* (1 dalam 10) dalam botol kaca aktinik rendah. Campur dan biarkan semalam, sebelum digunakan. Lindungi dari cahaya dan gunakan sebelum 7 hari.

**Brusin sulfat P**  $(\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; BM 1013,11; [5787-00-8]; murni pereaksi.

**1-Butanol P** Gunakan butil alkohol *P*.

**2-Butanol P** Gunakan butil alkohol sekunder *P*.

**Butan-2-on P** Etil metil keton, Metil etil keton *P*;  $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$ ; BM 72,11; [78-93-3]; murni pereaksi.

**Butil alkohol P** 1-butanol *P*; Butil alkohol normal *P*;  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$ ; BM 74,12; [71-36-3]; murni pereaksi.

**Butil alkohol normal P** Gunakan butil alkohol *P*.

**Butil alkohol sekunder P** 2-Butanol *P*;  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ ; BM 74,12; [78-92-2]; Gunakan isobutil alkohol *P*; murni pereaksi.

**Butil alkohol tersier P** Butanol tersier *P*;  $(\text{CH}_3)_3\text{COH}$ ; BM 74,12; [75-65-0]; murni pereaksi.

**n-Butilamin P**  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ; BM 73,14; [109-73-9].

*Pemerian* Cairan tidak berwarna hingga kuning pucat; mudah terbakar.

*Kelarutan* Dapat bercampur dengan air, dengan etanol dan dengan eter.

*Bobot jenis* Lebih kurang 0,740.

*Jarak destilasi* <1011> Metode I Tidak kurang dari 95% terdestilasi antara 76° dan 78°.

*Air* <1031> Metode I Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan dengan cara *Titrimetri*.

*Klorida* Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi, menggunakan 1 g zat (1,5 ml).

*Cemaran asam* Pada 50 ml tambahkan 5 tetes larutan jenuh *azo violet P* dalam *benzen P*, titrasi cepat dengan *natrium metoksida 0,1 N LV* hingga terjadi warna biru tua. Gunakan nitrogen agar tidak menyerap karbon dioksida dari udara; diperlukan tidak lebih dari 1,0 ml *natrium metoksida 0,1 N* untuk netralisasi.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat.

**Butil asetat normal P**  $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ ; BM 116,16; [123-86-4]; murni pereaksi.

**Butil-eter P** *n-Dibutil Eter P*;  $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$ ; BM 130,23; [142-96-1]; murni pereaksi.

**Butil hidroksianisol P** Gunakan *Butil hidroksianisol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Butil hidroksitoluen P** Gunakan *Butil hidroksi-toluen* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**n-Butil klorida P** *1-Klorobutana P*;  $\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl}$ ; BM 92,57; [109-69-3]; gunakan pelarut mutu KCKT.

*Pemerian* Cairan mudah menguap, jernih, tidak berwarna [*Peringatan Sangat mudah terbakar.*]

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air; bercampur dengan etanol dan eter.

**Cairan lambung buatan LP** Larutkan 2,0 g *natrium klorida P* dan 3,2 g *pepsin P* dalam 7,0 ml *asam klorida P* dan air hingga 1000 ml. pH larutan lebih kurang 1,2.

**Cairan usus buatan LP** Larutkan 6,8 g *kaliun fosfat monobasa P* dalam 250 ml air, campur dan tambahkan 77 ml *natrium hidroksida 0,2 N* dan 500 ml air. Tambahkan 10,0 g *pankreatin P*, campur dan atur pH hingga  $6,8 \pm 0,1$  dengan penambahan *natrium hidroksida 0,2 N* atau *asam klorida 0,2 N*. Encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Dapar amonia pH 10,0** Larutkan 5,4 g *amonium klorida P* dalam 70 ml *amonium hidroksida 5 M*, dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Dapar amonia pH 10,9** Larutkan 6,75 g *amonium klorida P* dalam *amonium hidroksida P* hingga 100 ml.

**Dapar amonia-amonium klorida pH 10,7 LP** Larutkan 67,5 g *amonium klorida P* dalam air, tambahkan 570 ml *amonium hidroksida P*, dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Dapar asam asetat-amonium asetat LP** Larutkan 77,1 g *amonium asetat P* dalam air, tambahkan 57 ml *asam asetat glasial P* dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Dapar asetat pH 2,45 LP** Campur 200 ml *asam klorida 1 N* dengan 200 ml *natrium asetat 1 N* dan encerkan dengan air hingga 1000 ml. Segera sebelum digunakan

atur pH hingga 2,45 dengan penambahan *asam klorida 1 N* atau *natrium asetat 1 N*.

**Dapar asetat pH 3,5 LP** Larutkan 25 g *amonium asetat P* dalam 25 ml air, tambahkan 38 ml *asam klorida 7 N*. Atur pH hingga 3,5 dengan penambahan *asam klorida 2 N* atau *amonium hidroksida 5 N* dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Dapar asetat pH 3,7** Larutkan 10 g *natrium asetat anhidrat P* dalam 300 ml air. Atur pH hingga 3,7 dengan penambahan *asam asetat glasial P* atau *natrium asetat anhidrat P* sebelum digunakan.

**Dapar asetat pH 4,4** Larutkan 136 g *natrium asetat P* dan 77 g *amonium asetat P* dalam air, encerkan dengan air hingga 1000 ml. Tambahkan 250 ml *asam asetat glasial P* dan campur.

**Dapar asetat pH 4,6** Larutkan 5,4 g *natrium asetat P* dalam 50 ml air, atur pH hingga 4,6 dengan penambahan *asam asetat glasial P* dan campur.

**Dapar barbital pH 8,6** Pada 129 ml *asam klorida 0,1 N*, tambahkan *barbital natrium 0,1 M* hingga 1000 ml.

**Dapar borat pH 8,0** Pada 50 ml larutan yang mengandung 618,9 mg *asam borat P* dan 745,6 mg *kaliun klorida P*, tambahkan 3,97 ml *natrium hidroksida 0,2 N LV* dan encerkan dengan air hingga 200 ml.

**Dapar borat pH 9,0** Pada 50 ml larutan yang mengandung 618,9 mg *asam borat P* dan 745,6 mg *kaliun klorida P* tambahkan 21,30 ml *natrium hidroksida 0,2 N LV* dan encerkan dengan air hingga 200 ml.

**Dapar dietanolamin pH 10,0** Larutkan 96,4 g *dietanolamin P* dalam air hingga 400 ml. Tambahkan 0,5 ml larutan *magnesium klorida P 18,6%*, atur pH hingga 10,0 dengan penambahan *asam klorida 1 N* dan encerkan dengan air hingga 500 ml.

**Dapar fosfat pH 6,4** Campurkan 50 ml *kaliun fosfat monobasa 0,2 M* dengan 12,60 ml *natrium hidroksida 0,2 N LV*, dan encerkan dengan air hingga 200 ml.

**Dapar fosfat pH 7,6** Campurkan 50 ml *kaliun fosfat monobasa 0,2 M* dengan 42,80 ml *natrium hidroksida 0,2 N LV* dan encerkan dengan air hingga 200 ml.

**Dapar fosfat campuran pH 4,0** Larutkan 5,04 g *natrium fosfat dibasa dodekahidrat P* dan 3,01 g *kaliun fosfat monobasa P* dalam air secukupnya hingga 1000 ml dan atur pH hingga 4,0 dengan penambahan *asam asetat glasial P*.

**Dapar fosfat campuran pH 7,0** mengandung *azida Ke* dalam 1000 ml larutan yang mengandung *natrium fosfat dibasa dodekahidrat P 1,8%* dan *natrium klorida P*

2,3%, tambahkan larutan *natrium fosfat monobasa dihidrat P* 0,78% dan larutan *natrium klorida P* 2,3% secukupnya (lebih kurang 280 ml) hingga pH 7,0. Larutkan sejumlah *natrium azida P* hingga kadar 0,02%.

**Dapar fosfat campuran 0,1 M pH 8,0** Larutkan 136,1 g *kalium dihidrogen fosfat P* dalam air dan atur pH hingga 8,0 dengan penambahan *natrium hidroksida 0,1 N*, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Dapar fosfat-sitrat pH 7,2** Campur 87,0 ml larutan *dinatrium hidrogen fosfat P* 7,15 % dengan 13,0 ml larutan *asam sitrat P* 2,1%.

**Dapar fosfat-sitrat pH 7,6** Larutkan 67,1 g *dinatrium hidrogen ortofosfat P* dan 1,33 g *asam sitrat P* dalam air hingga 100 ml.

**Dapar glisin** Campur 42 g *natrium bikarbonat P* dengan 180 ml air dan tambahkan larutan yang mengandung 37,5 g *glisin P* dan 15 ml *amonium hidroksida P* dalam 180 ml air. Encerkan dengan air hingga 500 ml dan kocok hingga larut sempurna.

**Dapar imidazol pH 6,5** Larutkan 6,81 g *imidazol P*, 1,23 g *magnesium sulfat P* dan 0,73 g *kalsium sulfat P* dalam 752 ml *asam klorida 0,1 M* encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Dapar imidazol pH 7,3** Larutkan 3,4 g *imidazol P* dan 5,8 g *natrium klorida P* dalam air, tambahkan 18,6 ml *asam klorida 1 M* encerkan dengan air hingga 1000 ml. Atur pH jika perlu.

**Dapar tris-glisin pH 8,3** Encerkan 6 g *tris (hidroksimetil)metilamina P* dan 28,8 g *glisin P* dalam air hingga 1000 ml. Encerkan 1 bagian volume larutan dengan 10 bagian volume air segera sebelum digunakan.

**Dapar tris-klorida pH 7,5** Larutkan 7,27 g *tris (hidroksimetil)metilamina P* dan 4,97 g *natrium klorida P* dalam 950 ml air. Atur pH hingga 7,5 dengan penambahan *asam klorida 2 M*, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Dapar untuk contoh**

<i>Tris (hidroksimetil)metilamina P</i>	1,5 g
<i>Asam klorida 1 M</i>	12 ml
<i>Urea P</i>	96 g
Air secukupnya hingga	200 ml

**Dekstran biru 2000 P** Gunakan *Biru dekstran 2000 P*.

**Dekstrosa P** Gunakan *D-glukosa P*.

**Dekstrosa anhidrat P** *D-Glukosa anhidrat*;  $C_6H_{12}O_6$ ; BM 180,16; murni pereaksi.

**Deniges, pereaksi** Gunakan *Raksa(II) sulfat LP*.

**3,3'-Diaminobenzidina hidroklorida P**  $(NH_2)_2C_6H_3$   
 $C_6H_3(NH_2)_2 \cdot 4HCl$ ; BM 360,11; [7411-49-6]

*Pemerian* Hablur bentuk jarum, putih sampai cokelat kekuningan (kadang-kadang ungu).

*Kelarutan* Larut dalam air. Stabil dalam pelarut organik tetapi tidak stabil dalam pelarut air pada suhu ruang.

*Zat tak larut* Tidak lebih dari 1 mg (0,05%); lakukan penetapan dengan melarutkan 2 g zat dalam 100 ml air tanpa pemanasan dan segera saring.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 1 mg (0,05%); lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 2 g zat.

*Uji kesesuaian untuk penetapan selenium* Larutkan 1,633 g *asam selenit P* ( $H_2SeO_3$ ) dalam air hingga 1000 ml. Encerkan 10 ml larutan ini dengan air hingga 1000 ml, hingga diperoleh larutan yang mengandung 0,010 mg per ml Se. Masukkan 1 ml larutan ke dalam gelas piala 100 ml, tambahkan 2 ml larutan *asam format P* (1 dalam 7) dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Tambahkan 2 ml larutan *3,3'-diamino-benzidina hidroklorida P* (1 dalam 200) dan diamkan selama 30 - 50 menit. Atur pH antara 6 dan 7 dengan *amonium hidroksida 6 N*. Masukkan ke dalam corong pisah 125 ml, tambahkan 10,0 ml *toluen P*, dan kocok kuat selama 30 menit: terjadi warna kuning terang dalam lapisan toluen. Blangko mengandung *diaminobenzidina hidroklorida* tanpa baku selenium, diperlakukan dengan cara yang sama: tidak terjadi warna dalam lapisan toluen.

*Wadah dan penyimpanan* Simpan larutan air dalam lemari pendingin.

**2,3-Diaminonaftalena P**  $C_{10}H_{10}N_2$ ; BM 158,20; [771-97-1]; murni pereaksi.

**Diamonium hidrogen fosfat P** Gunakan *amonium fosfat dibasa P*.

**o-Dianisidina dihidroklorida P**  $C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$ ; BM 317,21. Mengandung tidak kurang dari 98%  $C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$ .

*Pemerian* Hablur kuning pucat.

*Kelarutan* Larut dalam air. Larutan 500 mg dalam 25 ml air: larut sempurna dan jernih.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 800 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala, larutkan dalam 100 ml air dan tambahkan 50 ml *etanol P*. Jika sudah terlarut sempurna titrasi dengan *natrium hidroksida 0,5 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,5 N*  
setara dengan 158,6 mg  $C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$

**2,6-Dibromokuinon-klorimida P** *2,6-Dibromo-N-kloro-p-benzakuinon imina*; *Pereaksi DBQ*;  
 $O=C_6H_2Br_2:NCl$ ; BM 299,35; [537-45-1].

*Pemerian* Serbuk hablur kuning.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida encer.

**Jarak lebur** <1021> Antara 82° dan 84°.

**Kelarutan dalam etanol** Larutan 100 mg zat dalam 10 ml etanol P: tidak lebih keruh dari kekeruhan lemah.

**Sisa pemijaran** Tidak lebih dari 1 mg (0,2%); lakukan pemijaran seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 500 mg zat dengan 0,5 ml asam sulfat P.

**Kepekaan** Ke dalam 10 ml larutan dalam air yang mengandung 0,01 mg fenol P tambahkan 0,3 ml dapar natrium borat (dibuat dengan melarutkan 2,84 g hablur natrium borat P dalam 90 ml air hangat, tambahkan 8,2 ml natrium hidroksida 1 N dan encerkan dengan air hingga 100 ml) dan 0,1 ml larutan 10 mg zat dalam 20 ml etanol P: terjadi warna biru terang dalam waktu 10 menit.

**n-Dibutil eter P** *Butil eter*;  $C_8H_{18}O$ ; BM 130,23; [142-96-1]; murni pereaksi.

**Dibutil ftalat P**  $C_{16}H_{22}O_4$ ; BM 278,34; [84-74-2]; Mengandung tidak kurang dari 98%  $C_{16}H_{22}O_4$ .

**Pemerian Cairan** jernih tidak berwarna.

**Indeks bias** <1001> Antara 1,491 dan 1,493; lakukan penetapan pada suhu 20°.

**Kandungan asam** Tidak lebih dari 0,02%. Timbang saksama lebih kurang 10 g zat dan larutkan dalam 100 ml campuran etanol P-eter P (1:1). Tambahkan fenolftalein LP dan titrasi segera dengan kalium hidroksida-etanol 0,05 N LV.

Tiap ml kalium hidroksida-etanol 0,05 N setara dengan 4,15 mg asam ftalat

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 2 g zat dalam labu yang sesuai, tambahkan 25,0 ml natrium hidroksida 1 N dan 30 ml isopropanol P, campur. Digesti campuran pada suhu mendekati mendidih selama 30 menit, kemudian dinginkan dalam tangas air hingga suhu ruang. Tambahkan fenolftalein LP dan titrasi dengan asam sulfat 1 N LV hingga warna merah muda hilang. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam sulfat 1 N setara dengan 139,2 mg  $C_{16}H_{22}O_4$

**Dietanolamina P**  $C_4H_{11}NO_2$ ; BM 105,1; [111-42-2] murni pereaksi.

**Pemerian Cairan** kental tidak berwarna atau sedikit kuning atau hablur yang mudah meleleh atau larut, suhu lebur lebih kurang 28°.

**Bobot per ml** Lebih kurang 1,09.

**pH** <1071> pH larutan 5% antara 10,0 dan 11,5.

**Dietilamina P**  $(C_2H_5)_2NH$ ; BM 73,14; [109-89-7]. Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $(C_2H_5)_2NH$ ; murni pereaksi.

**Pemerian Cairan** tidak berwarna; mudah terbakar; alkali kuat. Dapat mengiritasi kulit dan selaput mukosa.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup baik.

**N,N-Dietilnilina P**  $C_6H_5N(C_2H_5)_2$ ; BM 149,23; [91-66-7].

**Pemerian Cairan** kuning muda sampai merah tua.

**Indeks bias** <1001> Antara 1,5405 dan 1,5425; lakukan penetapan pada suhu 20°.

**Penetapan kadar** Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan sejumlah zat uji (lebih kurang 0,2 µl) ke dalam kromatograf dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom baja tahan karat 3 mm x 1,8 m berisi bahan pengisi 20% fase diam G16 dengan partikel penyangga S1A. Gunakan helium P sebagai gas pembawa, laju alir lebih kurang 40 ml per menit. Pertahankan suhu injektor, detektor dan kolom masing-masing pada 250°, 310° dan 140°. dan naikkan suhu kolom 6° per menit hingga 200°. Luas puncak N,N-dietilnilina dengan waktu retensi lebih kurang 4,9 menit tidak kurang dari 99% dari luas total puncak.

**Dietil eter P** Gunakan etil eter P.

**Dietil eter anhidrat P** Gunakan etil eter anhidrat P.

**Difenilamina P**  $(C_6H_5)_2NH$ ; BM 169,23; [122-39-4]; murni pereaksi.

**Difenilamin LP** Larutkan 1,0 g difenilamina P dalam 100 ml asam sulfat P. Larutan harus tidak berwarna.

**Difenil eter P** *Fenil eter P*;  $(C_6H_5)_2O$ ; BM 170,21; [101-84-8].

**Pemerian Cairan** tidak berwarna.

**Kelarutan** Tidak larut dalam air; larut dalam asam asetat glasial dan dalam sebagian besar pelarut organik.

**Jarak lebur** <1021> Antara 26° dan 28°.

**Titik didih** Lebih kurang 259°.

**Difenilkarbazida P** *1,5-Difenilkarbohidrazida*;  $(C_6H_5NHNH)_2CO$ ; BM 242,28; [140-22-7]; murni pereaksi.

**Difenilkarbazida LP** Larutkan 0,2 g difenilkarbazida P dalam 10 ml asam asetat glasial P dan encerkan dengan etanol mutlak P hingga 100 ml.

**Difenilkarbazon P** *Senyawa difenilkarbazon dengan s-difenilkarbazida (1:1)*;  $C_6H_5NHNHCON:C_6H_5$ .  $C_6H_5NHNHCONHNHC_6H_5$ ; BM 482,54; [538-62-5]; murni pereaksi.

**Difenilkarbazon LP** Larutkan 1,0 g hablur difenilkarbazon P dalam 75 ml etanol P, kemudian tambahkan etanol P hingga 100 ml.

**Wadah dan Penyimpanan** Dalam botol berwarna cokelat.

**Digesti pankreatin kasein P** *Tripton P*; suatu pepton bakteriologi.

**Pemerian** Serbuk kuning keabu-abuan, bau khas, tetapi tidak busuk.



**Kelarutan** Mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol dan eter.

Kasein yang digunakan untuk digesti harus memenuhi spesifikasi berikut:

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 2,5%.

*Susut pengeringan* Tidak lebih dari 8%.

*Asam bebas* (sebagai asam laktat) Tidak lebih dari 0,25%.

*Lemak* Tidak lebih dari 0,5%.

*Gula mereduksi* Tidak lebih dari sesepora

*Kehalusan* Semua dapat melawati ayakan 20 mesh

*Derajat peruraian* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air.

a) Tuangkan 1 ml larutan hasil urai dengan 0,5 ml larutan yang terdiri dari 1 ml *asam asetat glasial P* dalam 10 ml *etanol encer P*: tidak terbentuk cincin atau endapan pada bidang batas dan bila dikocok tidak terjadi kekeruhan (ini menunjukkan tidak ada kasein yang tidak terurai).

b) Campur 1 ml larutan hasil urai dengan 4 ml larutan jenuh *zink sulfat P*: terbentuk sedikit endapan (menunjukkan adanya protease). Saring dan ambil filtrat.

c) Pada 1 ml filtrat dari uji terdahulu tambahkan 3 ml air dan 1 tetes *air brom LP*: terjadi warna merah ungu, menyatakan adanya triptofan.

*Kandungan nitrogen* Tidak kurang dari 10,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, dengan cara Kjeldahl, menggunakan zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° sampai bobot tetap.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 7,0%; lakukan pengeringan pada suhu 100° sampai bobot tetap.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 15%; lakukan penetapan menggunakan 500 mg zat dan 1 ml *asam sulfat P*.

*Nitrit* Pada 5 ml larutan digesti (1 dalam 50) tambahkan 0,5 ml *sulfanil-a-naftilamina LP* campurkan, dan diamkan selama 15 menit: tidak terjadi warna merah muda atau merah.

*Kandungan mikroba* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air. Ratakan 0,01 ml pada lempeng kaca 1 cm<sup>2</sup>. Warnai dengan pewarna Gram. Amati di bawah mikroskop dengan lensa minyak imersi. Tidak lebih dari 50 mikroorganisme jumlah atau kelompok tampak pada 10 pengamatan berturut-turut.

*Uji bakteriologi* Larutan hasil uji memenuhi uji bahan nutrisi bakteri berikut.

Buat media dengan komposisi sebagai berikut:

(a) larutan hasil urai 2% dalam air

(b) larutan hasil urai 0,1% dalam air

(c) larutan hasil urai 1%, *natrium klorida P* 0,5%, *dekstrosa P* 0,5% dalam air

(d) larutan hasil urai 1% dalam air

(e) larutan hasil urai 2%, *natrium klorida P* 0,5% *agar P* 1,5% dalam air.

Atur semua media hingga pH 7,2 sampai 7,4.

*Bebas dari karbohidrat yang dapat difermentasi* Pada media (a) tambahkan *fenolftalein LP* secukupnya sampai warna cukup jelas, masukkan ke dalam tabung fermentasi Durham dan masukkan ke dalam otoklaf. Inokulasi dengan biakan *Escherichia coli*, berumur

24 jam, inkubasi selama 48 jam: tidak terjadi asam atau hanya sesepora dan tidak terbentuk gas selama inkubasi.

*Pembentukan indol* Inokulasikan 5 ml media (b) dengan *Escherichia coli*, inkubasi selama 24 jam dan tambahkan lebih kurang 0,5 ml *p-dimetilaminobenzaldehida LP* terjadi warna merah muda atau merah terang yang larut dalam *kloroform P*.

*Pembentukan asetilmetilkarbinol* Inokulasikan 5 ml media (c) dengan *Aerobacter aerogenes* inkubasikan selama 24 jam. Lakukan penetapan dengan menambahkan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) ke dalam biakan dengan volume sama, kocok, biarkan pada suhu ruang selama beberapa jam: terjadi warna merah muda menunjukkan adanya asetil metilkarbinol.

*Pembentukan hidrogen sulfida* Inokulasikan 5 ml media (d) dengan *Salmonella typhosa*. Letakkan *kertas timbal asetat P* antara sumbat kapas dan mulut tabung hingga tergantung dengan ujung lebih kurang 5 cm dari permukaan biakan. Inkubasikan selama 24 jam: bagian bawah dari kertas timbal asetat terjadi warna hitam kecokelatan (*timbal sulfida*).

*Zat penunjang pertumbuhan Media* pada penetapan di atas menunjang pertumbuhan *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* dan *Salmonella typhosa*. Pada media (e) inokulasikan secara tusukan dengan *Brucella abortus*, setelah diinkubasi selama 48 jam menunjukkan pertumbuhan yang baik pada sepanjang penusukkan. Pada media miring (e) inokulasikan *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus albus*, menunjukkan pertumbuhan yang khas setelah inkubasi selama 24 jam. Pada media (e) tambahkan darah biri-biri atau darah kelinci 5%, setelah diinokulasi tuangkan ke dalam cawan Petri akan menunjukkan bidang alfa atau beta di sekeliling koloni *Pneumococcus* dan *Streptococcus beta hemolitik* (grup serologi A dan B), dapat dilihat setelah inkubasi selama 24 jam dan lebih nyata setelah 48 jam. Media (e) ditambah dengan 10% darah dan dipanaskan hingga suhu 80° hingga 90° sampai darah berubah warna menjadi cokelat akan menunjukkan pertumbuhan *gonococcus* dalam waktu 48 jam, bila diinkubasi dalam udara yang mengandung 10% karbon dioksida.

**Digesti papaik tepung kedelai P** Zat nutrisi mudah larut yang diperoleh dari reaksi enzim papain pada tepung kedelai yang dimurnikan dan dipekatkan. Memenuhi spesifikasi yang tertera pada *Digesti pankreatik kasein P*; kecuali yang berhubungan dengan kandungan nitrogen dan menunjukkan sejumlah gula mereduksi. Mengandung karbohidrat yang dapat difermentasi dan menunjukkan reaksi positif indol, asetilmetilkarbinol dan sulfida pada inokulasi dan inkubasi dengan organisme yang ditentukan.

*Kandungan nitrogen* Tidak kurang dari 8,5%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, dengan metode Kjeldahl terhadap zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° sampai bobot tetap.

**Digesti peptik jaringan hewan P** Suatu pepton bakteriologi.

*Pemerian* Serbuk, cokelat; bau khas, tetapi tidak busuk.

*Kelarutan* Larut dalam air, tidak larut dalam etanol dan dalam eter. Larutan (2 dalam 100) yang telah diotoklaf: jernih dan bereaksi netral atau hampir netral.

*Derajat peruraian* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air gunakan untuk penetapan berikut:

(a) Tambahkan 0,5 ml larutan campuran *asam asetat glasial P-etanol encer P* (1 dalam 10) ke atas 1 ml larutan hasil urai: tidak terbentuk cincin atau endapan pada batas kedua larutan, setelah dikocok tidak terbentuk kekeruhan, menunjukkan semua protein telah terurai.

(b) Campuran 1 ml larutan hasil urai dengan 4 ml larutan jenuh *zink sulfat P*: terbentuk sedikit endapan menunjukkan adanya sejumlah protease. Saring filtrat.

(c) Pada 1 ml filtrat di atas tambahkan 1 tetes *brom LP*: warna kuning terang berubah menjadi merah cokelat, menunjukkan adanya triptofan.

*Kandungan nitrogen, Susut pengeringan, Sisa pemijaran dan Nitrit* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Digesti pankreatik kasein P*.

*Kandungan mikroba* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air. Ratakan 0,01 ml pada 1 cm<sup>2</sup> kaca objek. Warnai dengan pewarna Gram, amati dengan lensa minyak imersi: tidak lebih dari 50 mikroba atau kelompok pada 10 pengamatan berturut-turut.

*Uji bakteriologi* Memenuhi uji nutrisi bakteri: Siapkan media dengan komposisi sebagai berikut:

(a) 2% hasil urai dan *merah fenol LP* secukupnya untuk memberi warna dalam air.

(b) 0,1% hasil urai dalam air.

(c) 0,1% hasil urai dan 0,5% *dekstrosa P* dalam air

(d) 1% hasil urai dalam air.

Atur semua media hingga pH akhir 7,2 - 7,4. Masukkan 5 ml larutan (a) ke dalam tabung fermentasi Durham dan masing-masing 5 ml larutan (b), (c) dan (d) ke dalam tabung reaksi biasa. Masukkan ke dalam otoklaf pada suhu 121° selama 15 menit. Setelah dibiarkan 24 jam terbentuk asam oleh *Escherichia coli* tetapi tidak oleh *Streptococcus liquefaciens*.

*Karbohidrat terfermentasi* Inokulasi larutan media (a) dengan *Escherichia coli* dan dengan *Streptococcus liquefaciens*: selama inkubasi 24 jam terbentuk asam oleh *Escherichia coli* tetapi tidak oleh *Streptococcus liquefaciens*.

*Pembentukan indol* Inokulasi *Aerobacter aerogenes* dan *Escherichia coli* dalam media (b) inkubasi selama 24 jam. Tambahkan lebih kurang 0,5 ml *p-dimetilaminobenzaldehida LP*, terjadi warna merah muda atau merah yang larut dalam *kloroform P* menunjukkan terbentuknya indol *Escherichia coli*; *Aerobacter aerogenes* memberikan reaksi negatif.

*Pembentukan asetilmetilkarbinol* Inokulasikan *Escherichia coli* dan *Aerobacter aerogenes* ke dalam media (c) inkubasi selama 24 jam. Tambahkan ke dalam kultur larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) volume sama, kocok, biarkan pada suhu ruang selama beberapa jam: terjadi warna merah muda menunjukkan

terbentuknya asetil-metil-karbinol oleh *Aerobacter aerogenes*; *Escherichia coli* memberikan reaksi negatif.

*Pembentukan hidrogen sulfida* Inokulasikan *Salmonella typhosa* ke dalam media (d), letakkan *kertas timbal asetat P* pada sumbat kapas, pada mulut tabung tergantung lebih kurang 5 cm di atas media. Inkubasi selama 24 jam. Bagian bawah kertas timbal asetat berwarna hitam kecokelatan (*timbal sulfida*).

**Diisopropil eter P** *Isopropil eter P*; [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH]<sub>2</sub>O; BM 102,18; [108-20-3].

*Pemerian* Cairan tidak berwarna, mudah mengalir.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol dan dengan eter. Sangat mudah terbakar. [Catatan Tidak boleh digunakan jika dekat api. Tidak boleh diuapkan hingga mendekati kering, karena cenderung terbentuk peroksida yang mudah meledak.]

*Bobot jenis* <981> Antara 0,716 dan 0,720.

*Jarak destilasi* <1011> *Metode II* Tidak kurang dari 95% terdestilasi pada suhu 65° dan 70°.

*Peroksida* Ke dalam gelas ukur bersumbat kaca yang telah dicuci, dan dibilas dengan sejumlah zat, masukkan 10 ml zat, tambahkan 1 ml larutan segar *kaliun iodida P* (1 dalam 10). Kocok dan diamkan selama 1 menit: tidak terjadi warna kuning pada kedua lapisan (lebih kurang 0,001% sebagai H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

*Sisa penguapan* [Catatan Jika ada peroksida, jangan dilakukan prosedur ini] Tidak lebih dari 1 mg (0,01%), lakukan penetapan dengan menguapkan 14 ml (10 g) zat dalam cawan dangkal yang telah ditara dan dikeringkan pada suhu 105° selama 1 jam.

*Keasaman* Tambahkan 2 tetes *biru bromotimol LP* ke dalam 10 ml air dalam labu Erlenmeyer 50 ml bersumbat kaca, dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,010 N LV* sampai tepat berwarna biru setelah dikocok kuat. Tambahkan 5 ml zat dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,010 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 0,30 ml untuk mengembalikan warna biru (0,005% sebagai CH<sub>3</sub>COOH). [Catatan Untuk penetapan secara spektrofotometri gunakan isopropil eter yang memenuhi persyaratan sebagai berikut]:

*Serapan* Serapan pada 255 nm tidak lebih dari 0,2; gunakan air sebagai blangko dan kuvet kuarsa 10 mm.

**Dikalium fosfat P** Gunakan *kaliun fosfat dibasa P*.

**Dikalium hidrogen fosfat P** Gunakan *kaliun fosfat dibasa P*.

**o-Diklorobenzen P** C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>; BM 147,00; [95-50-1]. Mengandung tidak kurang dari 98% C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>.

*Pemerian* Cairan jernih, berwarna cokelat muda kekuningan dan bau aromatik. Mendidih pada suhu lebih kurang 180°.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol dan dengan eter.

*Bobot jenis* <981> Antara 1,299 dan 1,301.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,548 dan 1,550 pada suhu 25°.

*Sisa penguapan* Tidak lebih dari 50 mg (0,005%); lakukan penetapan dengan menguapkan 80 ml zat pada tangas uap dan keringkan pada 105° selama 1 jam.

*Keasaman* Tambahkan *fenolftalein LP* pada 25 ml *metanol P*, dan titrasi dengan *kalium hidroksida-etanol 0,02 N LV* sampai warna merah muda tetap selama 15 detik. Pipet 25 ml zat ke dalam larutan, campur, hindari kontak dengan udara dan titrasi dengan *kalium hidroksida-etanol 0,02 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 2,2 ml untuk mengembalikan warna merah muda (lebih kurang 0,005%).

*Penetapan kadar* Lakukan *Kromatografi gas-cair* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*, menggunakan peralatan dan kondisi yang sesuai.

**1,2-Dikloroetana P** Gunakan *etilen diklorida P*.

**Diklorofluoresein P**  $C_{20}H_{10}Cl_2O_5$ ; BM 401,20; [76-54-0]. [*Catatan Spesifikasi ini berlaku untuk isomer 4,5 dan 2,7 dari diklorofluoresein yang sesuai untuk pembuatan diklorofluoresein LP.*]

*Pemerian* Serbuk hablur, jingga pucat.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 1 mg (0,5%); lakukan pemijaran seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 200 mg zat dengan 5 tetes *asam sulfat P*.

*Kepekaan* Larutkan 100 mg zat dalam 60 ml *etanol P*, tambahkan 2,5 ml *natrium hidroksida 0,1N* dan encerkan dengan air hingga 100 ml. Tambahkan 1 ml larutan ini pada larutan kalium iodida yang dibuat dengan melarutkan 100 mg *kalium iodida P* yang ditimbang saksama dan telah dikeringkan pada suhu 105° sampai bobot tetap, dalam 50 ml air yang mengandung 1 ml *asam asetat glasial P*. Titrasi dengan *perak nitrat 0,1 N LV* hingga warna endapan berubah dari jingga kuning pucat menjadi merah muda. Selisih antara volume *perak nitrat 0,1 N LV* yang diperlukan dan volume yang dihitung tidak lebih besar dari 0,10 ml, volume yang dihitung berdasarkan pada kandungan kalium iodida dalam zat yang telah dikeringkan seperti ditetapkan menurut *Penetapan kadar* yang tertera pada *Kalium iodida* dalam Farmakope Indonesia V.

**Diklorofluoresein LP** Larutkan 100 mg *diklorofluoresein P* dalam 60 ml *etanol P*, tambahkan 2,5 ml *natrium hidroksida 0,1 N*, campur, dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Diklorokuinonkloroimina P** Gunakan *2,6-diklorokuinon-klorimida P*.

**2,6-Diklorokuinon-klorimida P** *2,6-Dikloro-N-kloro-p-benzakuinon imina*;  $O:C_6H_2Cl_2:NCl$ ; BM 210,44.

*Pemerian* Serbuk hablur, kuning pucat.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida encer.

*Kelarutan dalam etanol* Larutan 100 mg zat dalam 10 ml *etanol P*: larut sempurna dan jernih.

*Jarak lebur <1021>* Antara 65° dan 67°.

*Sisa pemijaran <301>* Tidak lebih dari 1 mg (0,2%); lakukan penetapan dengan memijarkan 500 mg zat dengan 0,5 ml *asam sulfat P*.

*Kepekaan* memenuhi syarat uji *kepekaan* yang tertera pada *2,6-dibromokuinon-klorimida P*.

**Diklorometana P** Gunakan *metilen klorida P*.

**Diklorotetra fluoroetana P** Gunakan *Diklorotetra fluoroetana* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**p-Dimetilaminobenzaldehida P**  $(CH_3)_2NC_6H_4CHO$ ; BM 149,19; [100-10-7]; murni pereaksi.

**p-Dimetilaminobenzaldehida LP** Larutkan 125 mg *p-dimetilaminobenzaldehida P* dalam campuran dingin 65 ml *asam sulfat P* dan 35 ml air, tambahkan 0,05 ml *besi(III) klorida LP*. Gunakan dalam 7 hari.

**p-Dimetilaminosinamaldehida P**  $(CH_3)_2NC_6H_4CH:CHCHO$ ; BM 175,23.

*Pemerian* Serbuk, kuning jingga

*Kelarutan* Larut dalam aseton, dalam alkohol dan dalam benzen.

*Jarak lebur <1021>* Antara 132° dan 136°.

**N,N Dimetilnilina P**  $C_6H_5N(CH_3)_2$ ; BM 121,18; [121-69-7].

*Pemerian* Cairan kuning muda. Cairan jernih, tidak berwarna bila baru didestilasi, tetapi kemudian menjadi kemerahan atau cokelat kemerahan.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam eter, dan dalam asam mineral encer.

*Bobot jenis <981>* Lebih kurang 0,960.

*Suhu beku <1101>* Lebih kurang 2°.

*Indeks bias <1001>* Antara 1,5571 dan 1,5591; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Jarak didih* Destilasi 100 ml zat: perbedaan antara suhu dan waktu terdestilasi 1 ml dan 95 ml, tidak lebih dari 2,5°. Suhu didih pada tekanan 760 mmHg 194,2°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Hidrokarbon* Larutkan 5 ml zat dalam campuran 10 ml *asam klorida P* dan 15 ml air: terjadi larutan jernih dan tetap jernih pada pendinginan sampai lebih kurang 10°.

*Anilina atau monometilanilina* Masukkan 5 ml zat ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca, tambahkan 5 ml larutan *anhidrida asetat P* dalam *benzen P* (1 dalam 10), campur dan diamkan selama 30 menit. Tambahkan 30,0 ml *natrium hidroksida 0,5 N LV*, kocok dan tambahkan *fenolftalein LP*, titrasi dengan *asam klorida 0,5 N LV*: memerlukan tidak lebih dari 0,30 ml *natrium hidroksida 0,5 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*. Suntikkan sejumlah zat (lebih kurang 0,2 µl) ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom baja tahan karat 1,8 m x 3 mm

berisi bahan pengisi 20% fase diam *G16* dengan partikel penyangga *S1A*. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa, laju alir lebih kurang 40 ml per menit. Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada 250° dan 310°. Atur suhu awal kolom 50° dan naikkan 10° per menit hingga 200°. Luas puncak *N,N*-dimetilnilina dengan waktu retensi lebih kurang 11,5 menit tidak kurang dari 99% dari luas total puncak.

***N,N*-Dimetilasetamida P**  $C_4H_9NO$ ; BM 87,12; [127-19-5]. Gunakan pereaksi mutu KCKT atau spektrofotometri.

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna.

*Kelarutan* Dapat bercampur dengan air dan dengan beberapa pelarut organik.

**Dimetilformamida P** *N,N*-Dimetilformamida;  $HCON(CH_3)_2$ ; BM 73,09; [68-12-2]; murni pereaksi.

**Dimetilglioksima P**;  $C_4H_8N_2O_2$ ; BM 116,1; [95-45-4]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur putih atau serbuk tidak berwarna.

*Suhu lebur* Lebih kurang 240° dengan peruraian.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,05%.

***N,N*-Dimetiloktilamina P**  $C_{10}H_{23}N$ ; BM 157,30; [7378-99-6].

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Indeks bias* <1001> 1,4243; lakukan penetapan pada suhu 20°.

**Dimetil sulfoksida P** Gunakan *metil sulfoksida P*.

**1,2-Dimetoksietana P**  $C_4H_{10}O_2$ ; BM 90,12; [110-71-4].

*Pemerian* Cairan jernih tidak berwarna, bau eter sangat tajam.

*Kelarutan* Dapat bercampur dengan air dan dengan etanol; larut dalam pelarut hidrokarbon. Dapat membentuk peroksida.

*Jarak didih* Tidak kurang dari 95% terdestilasi pada suhu antara 83° dan 86°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,379 dan 1,381; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Keamanan* Pada 20 ml tambahkan *biru bromofenol LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,020 N LV*; diperlukan tidak lebih dari 2,0 ml (lebih kurang 0,015% sebagai  $CH_3COOH$ ).

*Air* <1031> *Metode I* Tidak lebih dari 0,2%.

***N,N* Dimetiloktilamin P**  $C_{10}H_{23}N$ ; BM 157,30; [7378-99-6].

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Indeks bias* <1001> 1,4243; lakukan penetapan pada 20°.

**Dinatrium edetat P** Gunakan *dinatrium etilendiaminatetraasetat P*.

**Dinatrium etilendiaminatetraasetat P** *Garam natrium asam (etilendinitrilo)tetraasetat dihidrat*; *Dinatrium edetat*,  $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$ ; BM 372,24; murni pereaksi.

**Dinatrium etilendiaminatetraasetat LP** (*Dinatrium edetat LP*) Larutkan 1 g *dinatrium etilendiaminatetraasetat P* dalam 950 ml air, tambahkan 50 ml *etanol P*, dan campur.

**Dinatrium fosfat P** Gunakan *natrium fosfat dibasa P*.

**Dinatrium hidrogen fosfat P** Gunakan *natrium fosfat dibasa P*.

**Dinatrium hidrogen sitrat P**  $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$ ; BM 263,1; [144-33-2]; murni pereaksi.

**2,4-Dinitrofenilhidrazin P**  $2,4-C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$ ; BM 198,14; [119-26-6]; mengandung tidak kurang dari 97%, gunakan pereaksi yang sesuai.

*Pemerian* Hablur merah jingga; jika dilihat di bawah mikroskop terlihat sebagai bentuk jarum warna kuning jeruk.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol; agak sukar larut dalam asam organik encer.

**2,4-Dinitrofluorobenzen P** *1-Fluoro-2,4-dinitrobenzena P*;  $C_6H_3FN_2O_4$ ; BM 186,10; [70-34-8]; gunakan mutu pereaksi yang sesuai.

*Pemerian* Padatan kuning muda.

**Dioksan P** *Dietilen dioksida*; *1,4-dioksan P*;  $C_4H_8O_2$ ; BM 88,11; [123-91-1]; murni pereaksi.

**Dioktil natrium sulfosuksinat P**  $C_{20}H_{37}NaO_7S$ ; BM 444,6; [577-11-7]; murni pereaksi. Mengandung lebih kurang 90%  $C_{20}H_{37}NaO_7S$ .

*Pemerian* Serpihan seperti malam, putih

**$\alpha$ - $\alpha'$ -Dipiridil P** Gunakan *2,2'-bipiridina P*.

**Dipikrilamina P** Gunakan *heksanitrodifenilamina P*.

**Disiandiamida P**  $H_2NC(=NH)NHCN$ ; BM 84,08; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur putih.

*Suhu lebur* Lebih kurang 211°.

**5,5-Ditiobis (asam 2-nitrobenzoat) P** *3-karboksi-4-nitrofenil disulfida*; *Pereaksi Ellman*;  $C_{14}H_8N_2O_8S_2$ ; BM 396,35; [69-78-3].

*Pemerian* Serbuk kuning

*Titik leleh* Lebih kurang 242°

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam etanol.

**Ditizon P** *Difeniltiokarbazon*; *Asam fenilazotioformat 2-fenilhidrazida*;  $C_6H_5N:NCSNHNC_6H_5$ ; BM 256,32; [60-10-6]; murni pereaksi.

**Ditizon LP (A)** Buat larutan segar *ditizon P* 0,05% dalam *kloroform P*.

**Ditizon LP** Larutkan 25,6 mg *ditizon P* dalam 100 ml *etanol P*. Simpan di tempat dingin dan gunakan dalam 2 bulan.

**Dodesil natrium sulfonat P** *Natrium 1-dodekanasulfonat*; *Garam natrium Asam 1-dodekanasulfonat*;  $C_{12}H_{25}SO_3Na$ ; BM 272,38; [2386-53-0]; gunakan mutu pereaksi yang sesuai.

*Pemerian* Padatan, serbuk putih.

*Kelarutan* Satu gram zat larut dalam 50 ml air hangat menghasilkan larutan jernih, tidak berwarna.

**Dokusat natrium P** Gunakan *Dioktil natrium sulfosuksinat P*.

**Domifen bromida P**  $C_{22}H_{40}BrN$ ; BM 414,5; [538-71-6]; gunakan mutu pereaksi yang sesuai.

**n-Dotriakontana P**  $C_{32}H_{66}$ ; BM 450,9; gunakan mutu peraksi yang sesuai.

*Pemerian* Lempeng, putih.

*Jarak lebur* <1021> Lebih kurang 69°.

**Dragendorff LP** Campur 850 mg *bismut subnitrat P* dengan 40 ml air dan 10 ml *asam asetat glasial P* (*Larutan A*). Larutkan 8 g *kaltium iodida P* dalam 20 ml air (*Larutan B*). Campur volume sama *Larutan A* dan *Larutan B* sebagai larutan persediaan yang dapat disimpan selama beberapa bulan dalam botol cokelat. Campur 10 ml larutan persediaan dengan 20 ml *asam asetat glasial P*, encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Ekstrak daging sapi P** Kaldu daging sapi konsentrat diperoleh dengan mengekstraksi daging sapi segar tanpa lemak, dengan cara merebus dalam air dan menguapkan kaldu pada suhu rendah dalam hampa udara sampai terbentuk residu kental berbentuk pasta. Masa berbentuk pasta, berwarna cokelat kekuningan sampai cokelat tua, bau dan rasa seperti daging, sedikit asam. Simpan dalam wadah tidak tembus cahaya, tertutup rapat.

*Larutan uji* Larutkan 25 g zat dalam air hingga 250 ml. Diperoleh larutan yang jernih dan bebas endapan.

*Penetapan kadar nitrogen dari zat larut dalam etanol* Tidak kurang dari 60 mg; lakukan penetapan sebagai berikut: masukkan sejumlah filtrat etanol, dan hasil pencucian dari uji *Zat tak larut dalam etanol*, setara dengan 1 g zat padat larut dalam etanol, ke dalam labu Kjeldahl 500 ml. Tambahkan lebih kurang 10 g serbuk *kaltium sulfat P* dan 20 ml *asam sulfat P*. Panaskan campuran pada suhu rendah hingga busa berkurang, kemudian naikan suhu dan didihkan sampai campuran menjadi kuning pucat atau hampir tidak berwarna. Dinginkan labu, tambahkan lebih kurang 250 ml air dan tambahkan hati-hati larutan *natrium hidroksida P* (3 dalam 10) sampai bersifat basa, kemudian tambahkan lagi 5 ml. Sambungkan segera labu dengan pendingin hingga ujung pipa tempat destilat menetes terbenam di

bawah permukaan 50,0 ml *asam sulfat 0,1 N LV* di dalam labu penampung. Destilasi campuran hingga diperoleh lebih kurang 100 ml destilat yang ditampung dalam larutan asam. Tambahkan *merah metil LP* dan titrasi kelebihan asam dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*.

*Tiap ml asam sulfat 0,1 N setara dengan 1,401 mg N*

*Penetapan kadar nitrogen sebagai amonia* Masukkan 100 ml *Larutan uji* ke dalam labu Kjeldahl 500 ml, tambahkan 5 g *barium karbonat P* dan 100 ml air, sambungkan labu pada pendingin hingga ujung pipa tempat destilat menetes terbenam di bawah larutan 50,0 ml *asam sulfat 0,1 N LV* di dalam labu penampung. Destilasi campuran hingga diperoleh lebih kurang 100 ml destilat yang ditampung dalam larutan asam, tambahkan *merah metil LP*, dan titrasi kelebihan asam dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*.

*Tiap ml asam sulfat 0,1 N setara dengan 1,703 mg NH<sub>3</sub>*

Jumlah amonium hidroksida tidak lebih dari 0,35% dari padatan jumlah dalam *Larutan uji* yang digunakan.

*Padatan jumlah* Tidak kurang dari 75%; ratakan 10 ml *Larutan uji* di atas pasir atau asbes bersih dan kering, yang telah ditara dalam cawan porselen, dan keringkan pada suhu 105° selama 16 jam. Residu tidak kurang dari 750 mg.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 30% dari padatan jumlah. Pijarkan residu yang diperoleh dari uji *Padatan jumlah*.

*Klorida terhitung sebagai natrium klorida* Larutkan abu yang diperoleh dari uji *Sisa pemijaran* dalam lebih kurang 50 ml air dan masukkan secara hati-hati ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan beberapa tetes *asam nitrat P* dan 10,0 ml *perak nitrat 0,1 N LV*. Tambahkan air sampai tanda, kocok. Saring ke dalam labu kering melalui penyaring kering, buang 10 ml filtrat pertama. Pada 50,0 ml filtrat berikutnya, tambahkan 1 ml *besi(III) amonium sulfat LP* dan titrasi dengan *amonium tiosianat 0,1 N LV*.

*Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 5,844 mg NaCl*

Bobot klorida yang terhitung sebagai natrium klorida, jika dikalikan 2, tidak lebih dari 6% dari padatan jumlah.

*Zat tak larut dalam etanol* Pipet 25 ml *Larutan uji* ke dalam labu Erlenmeyer 100 ml, tambahkan 50 ml *etanol P*, kocok kuat. Kumpulkan endapan dalam penyaring seimbang, cuci tiga kali, tiap kali dengan campuran 2 volume *etanol P* dan 1 volume air, keringkan pada suhu 105° selama 2 jam. Bobot endapan, menunjukkan zat padat tidak larut dalam etanol: tidak lebih dari 10% dari padatan jumlah dari *Larutan uji* yang digunakan.

*Nitrat* Didihkan 10 ml *Larutan uji* selama 1 menit dengan 1,5 g *arang aktif P*, tambahkan air untuk mengganti bagian air yang menguap, saring. Tambahkan

1 tetes filtrat pada 3 tetes larutan *difenilamina P* (1 dalam 100) dalam *asam sulfat P*: tidak terjadi warna biru.

**Ekstrak ragi P** Turunan sel ragi (*Saccharomyces*) seperti pepton, yang larut dalam air, dibuat dalam kondisi optimum, dijernihkan dan dikeringkan hingga diperoleh serbuk kuning kemerahan sampai cokelat: bau khas tetapi tidak berbau busuk. Larutan dalam air, bereaksi agak asam, dan berwarna kuning sampai cokelat. Tidak mengandung karbohidrat yang ditambahkan: 1 g ekstrak ragi setara dengan tidak kurang dari 7,5 g ragi.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° sampai bobot tetap.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 15%; lakukan penetapan menggunakan 500 mg zat dengan 1 ml *asam sulfat P*.

*Protein terkoagulasi* Dididihkan filtrat larutan dalam air (1 dalam 20) yang telah disaring: tidak terbentuk endapan.

*Klorida* Tidak lebih dari 5% Cl, dihitung sebagai natrium klorida; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Kandungan nitrogen* Antara 7,2% dan 9,5% N; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, dengan metode Kjeldahl menggunakan zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° sampai bobot tetap.

*Kandungan mikroba* Memenuhi syarat uji kandungan mikroba seperti tertera pada *Digesti pankreatik kasein P*.

**Emas klorida P** *Asam kloraurat*;  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; BM 393,83; [16903-35-8]; murni pereaksi.

**Emas klorida LP** Larutkan 1 g *emas klorida P* dalam 35 ml air.

**Enzim basa fosfatase P**; murni pereaksi.

**Eosin Y P** *Eosin kekuningan Y*; *Natrium Tetrabromo Fluorosein*;  $\text{C}_{20}\text{H}_6\text{Br}_4\text{Na}_2\text{O}_5$ ; BM 691,85; [17372-87-1]

*Pemerian* Serbuk atau lempengan merah sampai merah kecokelatan.

*Kelarutan* Larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol.

*Sifat warna* Larutan (1 dalam 500) berwarna kekuningan sampai merah keunguan dengan fluoresensi kehijauan. Larutan (1 dalam 12.000) dalam *etanol P* berwarna merah muda sampai merah keunguan dengan fluoresensi kuning kehijauan. Penambahan asam mineral pada larutan (1 dalam 100) membentuk endapan jingga sampai jingga kemerahan dari tetrabromofluorosein. Pada penambahan 2 ml larutan jenuh *natrium hidroksida P* pada 10 ml larutan (1 dalam 100) terbentuk endapan merah.

**Eosin Y LP** *Indikator adsorpsi* Larutkan 50 mg *eosin Y P* dalam 10 ml air.

**Eriokrom sianin R P**  $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{Na}_3\text{O}_9\text{S}$ ; BM 536,40; [3564-18-9]

*Pemerian* Serbuk merah cokelat

*Kelarutan* Mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

*Daya larut* 200 mg zat dalam 100 ml air membentuk larutan jernih dan bebas dari zat yang tidak larut selama 30 menit.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 2%; lakukan pengeringan dalam hampa udara di atas *silika gel P* sampai bobot tetap.

*Sisa pemijaran* <301> Antara 42,0% dan 44,0% bobot kering (hasil teoritis  $\pm 42,9\%$   $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ); lakukan penetapan menggunakan 500 mg zat dengan penambahan 1 ml *asam sulfat P* dan 2 ml *asam nitrat P*.

*Kepekaan* Tambahkan 2 ml larutan (1 dalam 1000) pada 1 ml larutan *aluminium sulfat P* (1 dalam 10.000), panaskan pada suhu  $37^\circ \pm 3^\circ$  selama 5 menit, dinginkan, dan tambahkan 1 ml *natrium asetat LP*: akan terbentuk warna merah tua hingga ungu-merah dalam waktu tidak lebih dari 5 menit.

**Eriokrom sianin R LP** Larutkan 750 mg *eriokrom sianin R P* dalam 200 ml air, tambahkan 25 g *natrium klorida P*, 25 g *amonium nitrat P*, dan 2 ml *asam nitrat P*, dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Etanal P** Gunakan *asetaldehida P*.

**Etanol P** *Alkohol P*; *Etil alkohol P*;  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ; BM 46,07; [64-17-5]. Gunakan *Etanol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Etanol 70% P, 80% P, 90% P** Campur *etanol P* dan air dengan perbandingan seperti *Tabel* berikut: pengukuran dilakukan pada suhu 25°.

Persen volume $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ pada suhu 15,56°	Bobot jenis pada suhu 25°	Perbandingan relatif		Jumlah ml etanol 94,9% yang dibutuhkan per 100 ml
		<i>Etanol P</i> (ml)	Air (ml)	
70	0,884	38,6	15	73,7
80	0,857	45,5	9,5	84,3
90	0,827	51	3	94,8

**Etanol absolut P** Gunakan *etanol mutlak P*.

**Etanol bebas aldehida P** Larutkan 2,5 g *timbal(II) asetat P* dalam 5 ml air, tambahkan pada 1000 ml *etanol P* dalam botol bersumbat kaca, dan campur. Larutkan 5 g *kalium hidroksida P* dalam 25 ml *etanol P* hangat, dinginkan, dan tambahkan perlahan-lahan sambil diaduk ke dalam larutan *timbal(II) asetat P* dalam etanol tersebut. Setelah 1 jam kocok kuat, biarkan semalam, enaptuangkan beningan dan destilasi untuk mendapatkan etanol bebas aldehida.

**Etanol dehidrat P** Gunakan *etanol mutlak P*.

**Etanol encer P** Etanol encer adalah campuran *etanol P* dalam air. Mengandung tidak kurang dari 41,0% dan tidak lebih dari 42,0% b/b setara dengan tidak kurang dari 48,4% dan tidak lebih dari 49,5% v/v  $C_2H_5OH$  pada suhu 15,56°. Etanol encer dibuat dengan mencampur 500 ml *etanol P* dan 500 ml *Air Murni* yang diukur secara terpisah dan campuran diukur pada suhu 25°, volume campuran lebih kurang 970 ml.

*Bobot jenis* <981> Antara 0,935 dan 0,937 pada suhu 15,56°; antara 41,0% dan 42% b/b atau antara 48,4% dan 49,5% v/v  $C_2H_5OH$ .

*Uji lain* Memenuhi uji lain yang tertera dalam *Etanol*; lakukan penyesuaian berdasarkan perbedaan kadar  $C_2H_5OH$ .

**Etanol mutlak P** *Etanol absolut*; *Etil alkohol absolut*; *Etanol dehidrat*;  $C_2H_5OH$ , BM 46,07; murni pereaksi. Mengandung  $C_2H_5OH$  tidak kurang dari 99,5% b/b atau 99,7% v/v.

*Pemerian Cairan* tidak berwarna, higroskopis, bau khas.

*Suhu didih* Lebih kurang 78°.

*Bobot per ml* Lebih kurang 790 mg.

**Etanol netral P** Pada sejumlah *etanol P* tambahkan 2 atau 3 tetes *fenolftalein LP* dan *natrium hidroksida 0,02 N* atau *0,1 N* secukupnya hingga terjadi warna merah muda pucat. Buat *etanol netral P* segera sebelum digunakan.

**Eter P** Gunakan *etil eter P*.

**Eter bebas peroksida P** Kocok 1000 ml *eter P* dengan 20 ml larutan *besi(II) sulfat P* dalam air (30 g dalam 55 ml) dan 3 ml *asam sulfat P*, hingga tidak terbentuk warna biru bila sejumlah kecil zat dikocok dengan larutan *kalium iodida P 2%* dan 0,1 ml *kanji LP*.

**Eter minyak tanah P** *Petroleum eter P*; murni pereaksi.

*Pemerian Cairan* tidak berwarna, mudah menguap, sangat mudah terbakar, diperoleh dari minyak tanah, terdiri dari campuran hidrokarbon parafin rendah, seperti fraksi berikut:

Jarak didih	Bobot per ml
30° sampai 40°	Lebih kurang 0,63 g
40° sampai 60°	Lebih kurang 0,64 g
50° sampai 70°	Lebih kurang 0,66 g
60° sampai 80°	Lebih kurang 0,67 g
80° sampai 100°	Lebih kurang 0,70 g
100° sampai 120°	Lebih kurang 0,72 g
120° sampai 160°	Lebih kurang 0,75 g

**Eter mutlak P** *Etil eter anhidrat P*; *Eter absolut*; *Dietil eter anhidrat*;  $(C_2H_5)_2O$ ; BM 74,12; murni pereaksi.

**Etil alkohol P** Gunakan *Etanol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Etil alkohol absolut P** Gunakan *etanol mutlak P*.

**Etil asetat P**  $CH_3COOC_2H_5$ ; BM 88,11; [141-78-6]; murni pereaksi.

**Etil benzoat P**  $C_9H_{10}O_2$ ; BM 150,17; [93-89-0].

*Pemerian Cairan* jernih, tidak berwarna. Berbau aromatis.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol, dengan kloroform, dan dengan eter.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,5048 dan 1,5058; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan kadar dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan zat secukupnya ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan kolom baja tahan karat 3 mm x 2,4 m berisi bahan pengisi 20% fase diam *G16* dengan partikel penyangga *S1A*. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa. Pertahankan suhu injektor, kolom dan detektor masing-masing pada 180°, 195° dan 250°. Luas puncak etil benzoat tidak kurang dari 98% dari jumlah luas puncak.

**Etil eter P** *Dietil eter P*; *eter P*;  $(C_2H_5)_2O$ ; BM 74,12; murni pereaksi.

**Etil eter anhidrat P** *Dietil eter anhidrat P*; *Eter mutlak P*;  $(C_2H_5)_2O$ ; BM 74,12; [60-29-7]; murni pereaksi.

**Etil metil keton P** Gunakan *butan-2-on P*

**Etilen oksida P** *Oksiran*;  $C_2H_4O$ ; BM 44,05; [75-21-8]; murni pereaksi.

*Pemerian Gas* tidak berwarna, titik cair lebih kurang 12°.

**Etilen oksida dalam metilen klorida P** (50 mg per ml); gunakan mutu pereaksi yang sesuai.

**Etil sianoasetat P**  $CNCH_2COOC_2H_5$ ; BM 113,11; [105-56-6].

*Pemerian Cairan* tidak berwarna sampai kuning pucat, bau enak. Pada tekanan atmosfer, mendidih antara 205° dan 209° disertai peruraian. Pada tekanan 10 mmHg terdestilasi pada suhu lebih kurang 90°.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol dan eter.

*Bobot jenis* <981> Antara 1,057 dan 1,062; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Keasaman* Larutkan 2 ml zat dalam 25 ml *etanol netral P*, tambahkan *fenolftalein LP* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,10 N LV*; diperlukan tidak lebih dari 1,5 ml *natrium hidroksida 0,10 N* untuk terjadi warna merah muda.

**Etilena diklorida P** *1,2-Dikloroetana P*;  $C_2H_4Cl_2$ ; BM 98,96; [107-06-2]; murni pereaksi.

**Etilendiamina P** *1,2-Diaminoetan*;  $C_2H_8N_2$ ; BM 60,10; [107-15-3]. Mengandung tidak kurang dari 99%  $C_2H_8N_2$ .

[Perhatian Hati-hati dalam penggunaan etilendiamina karena dapat menyebabkan rasa terbakar pada kulit dan uapnya dapat mengiritasi. Catatan Etilendiamina bersifat alkali kuat, sangat mudah menyerap karbon dioksida udara membentuk karbonat yang tidak mudah menguap. Lindungi etilendiamina terhadap paparan udara.]

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna atau agak kuning; bau seperti amoniak; bereaksi alkali kuat.

*Kelarutan* Dapat bercampur dengan air dan dengan etanol.

*Identifikasi* Tambahkan 3 tetes larutan zat (1 dalam 6) pada 2 ml larutan tembaga(II) sulfat P (1 dalam 100), kocok; terjadi warna biru keunguan.

*Penetapan kadar* Pipet 1 ml zat ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca berisi lebih kurang 25 ml air yang telah ditara, encerkan dengan air hingga lebih kurang 75 ml, tambahkan indikator campuran hijau bromokresol LP dan merah metil LP (5 dalam 6). Titrasi dengan asam klorida 1 N LV. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml asam klorida 1 N  
setara dengan 30,05 mg  $C_2H_8N_2$

**Etilen glikol P**  $HOCH_2CH_2OH$ ; BM 62,07; [107-21-1].

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna, agak kental, higroskopis; praktis tidak berbau.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam benzen, sedikit larut dalam eter; dapat bercampur dengan air dan etanol.

*Bobot jenis* Lebih kurang 1,11.

*Jarak didih* Antara 194° dan 200°; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 5,5 mg (0,005%). Uapkan 100 ml (110 g) zat di dalam cawan penguap yang telah ditara di atas nyala api hingga uap terus terbakar setelah api dimatikan. Biarkan uap terbakar hingga zat habis. Pijarkan pada suhu 800±25° selama 1 jam, dinginkan dan timbang.

*Keasaman* Tidak lebih dari 0,01% sebagai  $CH_3COOH$ . Tambahkan 0,2 ml merah fenol LP pada 50 ml air dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV sampai titik akhir berwarna merah. Tambahkan 50 ml (55 g) zat dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV; diperlukan tidak lebih dari 1 ml untuk terjadinya kembali warna merah.

*Klorida* Tidak lebih dari 0,025 mg klorida (5 bpj); lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi, menggunakan 4,5 ml (5 g) zat.

Air <1031> Metode I Tidak lebih dari 0,20%.

**1-Etilkuinaldinium iodida P**  $C_{12}H_{14}IN$ ; BM 299,15; [606-55-3]. Mengandung tidak kurang dari 97,0%  $C_{12}H_{14}IN$ .

*Pemerian* Padatan, berwarna hijau kuning.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 290 mg zat, larutkan dalam 100 ml air, dan tambahkan 10 ml asam asetat glasial P. Titrasi dengan perak nitrat 0,1 N

LV, tetapkan titik akhir secara potensiometri. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N  
setara dengan 29,92 mg  $C_{12}H_{14}IN$

**Etilparaben P** Gunakan Etilparaben seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Faktor Xa (Faktor X teraktivasi) untuk uji Antifaktor Xa P** Faktor Xa adalah enzim proteolitik yang diperoleh dari plasma sapi, untuk memecah protrombin menjadi thrombin. Faktor Xa adalah suatu glikoprotein dengan bobot molekul 40.000. Satu unit faktor Xa adalah jumlah Faktor X teraktivasi (55.000 Da waktu nonaktif) yang terkandung dalam 1 ml plasma normal. Dengan elektroforesis-gel seperti tertera pada Elektroforesis <831>, protein utama penyusun tidak kurang dari 90% dari zona protein total. Di dalam Faktor Xa untuk uji Anti-faktor Xa, enzim diaktifkan oleh bisa ular Russel, kemudian zat pengaktivasi dihilangkan dengan cara kromatografi. Sediaan distabilkan dengan albumin sapi dan dibekukeringkan. Aktivitas spesifik Faktor Xa untuk uji Anti-Faktor Xa sesuai dengan tidak kurang dari 40 unit Faktor Xa FI per mg protein, jika diuji dengan cara berikut: Campur 0,1 ml larutan jenuh sefalina yang berasal dari tromboplastin otak kelinci (setara dengan tromboplastin dari lebih kurang 20 mg serbuk aseton otak kelinci per ml) dalam plasma sapi dan 0,1 ml kalsium klorida 0,025 M, segera tambahkan 0,1 ml larutan Faktor Xa yang sesuai dengan kadar 0,01 mg protein spesifik per ml dan simpan pada suhu 37°: terjadi penjendalan dalam 15 detik. Faktor Xa untuk uji Anti-faktor Xa di dalam larutan yang mengandung 0,4 unit Faktor Xa FI per ml dalam dapar pH 8,4 seperti tertera pada monografi Heparin Natrium memenuhi uji bebas thrombin: tidak terjadi penjendalan dari kelebihan fibrinogen murni dalam waktu 24 jam jika disimpan pada suhu 20° tanpa ion kalsium.

**Fast blue B, garam P** Garam biru B tahan cuci P; Garam biru tidak luntur;  $C_{14}H_{12}N_4O_2 \cdot ZnCl_4$ ; BM 475,47; [91-91-8].

*Pemerian* Serbuk hijau.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 5,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu 110° selama 1 jam.

*Serapan* Larutkan 50 mg zat dalam 100 ml air. Dalam wadah lain larutkan 100 mg 2-naftol P dalam 100 ml 2-metoksietanol P. Pipet 5 ml larutan uji dan 10 ml larutan 2-naftol P ke dalam labu tentukur 100-ml, dan encerkan dengan aseton P sampai tanda. Buat blangko, pipet 5 ml air dan 10 ml larutan 2-naftol P ke dalam labu tentukur 100-ml lain dan encerkan dengan aseton P sampai tanda. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang serapan maksimum 545 nm; serapan tidak kurang dari 0,80.

**Fast blue BB, garam P**  $(C_{17}H_{18}ClN_3O_3)_2 \cdot ZnCl_2$ ; BM 831,89; [15710-69-7].

*Pemerian* Serbuk kuning.



*Jarak lebur* Lebih kurang 162° dengan peruraian.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air.

*Klorida* Tidak kurang dari 15% klorida. Timbang saksama lebih kurang 80 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala yang sesuai. Tambah 25 ml *aseton P*, 25 ml air dan 500 mg *natrium nitrat P*. Aduk hingga larut. Titrasi dengan *perak nitrat 0,01 N LV*, tetapkan titik akhir secara potensiometri. Lakukan penetapan blangko.

**Fehling, Larutan** Gunakan *tembaga(II) tartrat alkali LP*.

**1,10-Fenantrolin P** *Ortofenantrolin*;  $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ ; BM 198,22; [5144-89-8]; murni pereaksi.

**1,10-Fenantrolin hidroklorida P** *o-Fenantrolin monohidroklorida monohidrat*;  $C_{12}H_8N_2 \cdot HCl \cdot H_2O$ ; BM 234,69; gunakan mutu pereaksi yang sesuai.

**Fenil eter P** Gunakan *difenil eter P*.

**3-Fenilfenol P** *m-Fenilfenol P*;  $C_6H_5C_6H_4OH$ ; BM 170,21; [580-51-8].

*Pemerian* Serbuk kristal putih atau hampir putih.

*Jarak lebur* <1021> Antara 76° dan 79°.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan larutan zat secukupnya ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kapiler 30 m x 0,25 mm berisi bahan pengisi fase diam *G1*. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa. Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada 250° dan 310°. Pertahankan suhu kolom pada 150° dan naikan suhu 15° per menit hingga 250°. Luas puncak fenilfenol tidak kurang dari 98% dari jumlah luas puncak.

**m-Fenilfenol P** Gunakan *3-Fenilfenol P*.

**Fenilhidrazin hidroklorida P**;  $C_6H_5NHNH_2 \cdot HCl$ ; BM 144,60; [59-88-1].

*Pemerian* Serbuk, putih atau hampir putih.

*Kelarutan* Larut dalam air dan dalam etanol.

*Daya larut* Larutkan masing-masing 500 mg zat dalam 10 ml air dan dalam 10 ml *etanol P*, menghasilkan larutan jernih yang larut sempurna atau hampir sempurna.

*Jarak lebur* <1021> Antara 242° dan 246° dengan sedikit menjadi gelap.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 1 mg (0,1 %); lakukan pemijaran seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 1 g zat dengan 0,5 ml *asam sulfat P*.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya.

**Fenilhidrazin-asam sulfat LP** Larutkan 65 mg *fenilhidrazin hidroklorida P* dalam 100 ml campuran volume sama *asam sulfat P* dan air yang sudah didinginkan.

**Fenilmerkuri nitrat P** Gunakan *Fenilraksa(II) nitrat* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Fenoksibenzamina hidroklorida P** [*N*-(2-kloro-etil)-*N*-(1-metil-2-fenoksietil) benzilamina hidroklorida];  $C_{18}H_{22}ClNO \cdot HCl$ ; BM 340,29; [63-92-3]

*Pemerian* Serbuk hablur putih.

*Suhu lebur* <1021> Antara 137° dan 140°.

*Serapan jenis* Larutkan masing-masing 500 mg dalam 10 ml air. Serapan jenis dalam *kloroform P* pada rentang panjang gelombang 272 nm sampai 290 nm adalah 178.

**Fenol P** [108-95-2]; murni pereaksi.

**Fenol murni P** Gunakan *fenol P* yang dimurnikan dengan cara sebagai berikut: Refluks sejumlah tertentu zat dalam alat refluks gelas. Lelehkan fenol dan refluks selama 20 menit dengan mengalirkan *nitrogen P* ke dalam fenol yang meleleh. Hentikan aliran nitrogen, dan lakukan destilasi lagi dengan perbandingan refluks 10:1. Hangatkan 3 g fenol yang telah didestilasi dengan 10 ml *asam sulfat P*, pada suhu 95°C selama 10 menit; warna campuran tidak lebih tua dari warna asam dengan volume yang sama.

**Fenol cair P** Gunakan *Fenol Cair* yang tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Fenolftalein P** Gunakan *Fenolftalein P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Fenolftalein LP** Larutkan 1 g *fenolftalein P* 0,1% dalam 100 *etanol P*.

**Fenolftalein encer LP** Larutkan 1 g *fenolftalein P* 0,1% dalam *etanol 80% P*. Lakukan uji kepekaan sebagai berikut: Campur 0,1 ml larutan dan 100 ml *air bebas karbon dioksida P*; larutan tidak berwarna. Untuk mengubah warna larutan menjadi merah muda: diperlukan *natrium hidroksida 0,02 M* tidak lebih dari 0,2 ml.

**Fenol sulfonftalein LP** Gunakan *merah fenol LP* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Feri klorida P** Gunakan *besi(III) klorida heksahidrat P*;  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ; BM 270,29; [10025-77-1].

**Feroin sulfat LP** Kompleks Tris (1,10-fenantrolin)-besi(II) sulfat yang dibuat dengan cara sebagai berikut: Larutkan 700 mg *besi(II) sulfat P* dalam lebih kurang 70 ml air dan tambahkan 1,5 g *1,10-fenantrolin P* dan air hingga 100 ml.

*Daya kepekaan terhadap serium(IV)* Tambahkan 0,1 ml larutan dan 0,15 ml larutan *osmium tetraoksida P* 1% pada 50 ml *asam sulfat 2 N*. Tambahkan 0,1 ml *amonium serium(IV) nitrat 0,1 M*. Warna berubah dari merah menjadi biru muda.

**Floroglusinol P** *Benzen 1,3,5-triol*;  $C_6H_6O_3 \cdot 2H_2O$ ; BM 162,1; [6099-90-7]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur putih atau krem pucat.

*Suhu lebur* Lebih kurang 223°.

**Fluoksimesteron P** Gunakan *Fluoksimesteron* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Fluoreskamina P**  $C_{17}H_{10}O_4$ ; BM 278,26; [38183-12-9]. Mengandung tidak kurang dari 99%  $C_{17}H_{10}O_4$ .

*Pemerian* Serbuk, putih atau hampir putih.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam metilena klorida; larut dalam etanol dan sukar larut dalam kloroform.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 600 mg zat, larutkan dalam 75 ml *dimetilformamida P* dan titrasi dengan *litium metoksida 0,1 N LV* hingga berwarna biru, menggunakan larutan *biru timol P 1%* dalam *dimetilformamida P* sebagai indikator. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml litium metoksida 0,1 N setara dengan 27,83 mg  $C_{17}H_{10}O_4$*

**1-Fluoro-2,4 dinitrobenzen P**  $C_6H_3FN_2O_4$ ; BM 186,1; [70-34-8]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur, gumpalan atau cairan, kuning pucat, melepuhkan kulit, uap dapat merangsang keluarnya air mata.

*Suhu lebur* Lebih kurang 29°.

*Bobot per ml* Lebih kurang 1,48 g.

*Indeks bias* Lebih kurang 1,569.

**Folin-Ciocalteu fenol LP** Ke dalam labu 1500 ml, masukkan 100 g *natrium tungstat P*, 25 g *natrium molibdat P*, 700 ml air, 50 ml *asam fosfat P*, dan 100 ml *asam klorida P*. Refluks campuran dengan hati-hati selama lebih kurang 10 jam, kemudian tambahkan 150 g *litium sulfat P*, 50 ml air, dan beberapa tetes *brom P*, didihkan campuran, tanpa kondensor, selama lebih kurang 15 menit, atau hingga kelebihan brom hilang. Dinginkan, dan encerkan dengan air hingga 1000 ml, dan saring: filtrat tidak memberikan warna kehijauan. Sebelum digunakan encerkan 1 bagian filtrat dengan 1 bagian air.

**Formaldehida LP** Gunakan larutan *formaldehida P*.

**Formamida P**  $HCONH_2$ ; BM 45,04; [75-12-7]; murni pereaksi.

*Sediaan untuk penetapan kadar digitoksin* Formamida untuk penetapan kadar digitoksin harus bebas amonia. Perlakukan formamida sebagai berikut: kocok sejumlah formamida dengan *kalium karbonat anhidrat P* sejumlah lebih kurang 10% dari bobot formamida, selama 15 menit, dan saring. Destilasi filtrat dalam alat destilasi yang semuanya terbuat dari kaca, di dalam hampa udara pada tekanan lebih kurang 25 mmHg atau kurang. Buang

bagian pertama destilat yang mengandung air, dan kumpulkan fraksi dengan titik didih lebih kurang 115° pada tekanan 25 mmHg atau pada suhu 101° dan tekanan 12 mmHg.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya.

**Fosfor pentoksida P** *Anhidrida fosfat P*;  $P_2O_5$ ; BM 141,94; [1314-56-3]; murni pereaksi.

**o-Ftalaldehida P** *Ftalat dikarbokaldehida*;  $C_6H_4(CHO)_2$ ; BM 134,13; [643-79-8]; murni pereaksi.

**Ftalat dikarbokaldehida P** Gunakan *o-Ftalaldehida P*.

**Fukhsin basa P** Gunakan *Magenta basa P*.

**Fukhsin-asam sulfit LP** Larutkan 200 mg *fukhsin basa P* dalam 120 ml air panas dan biarkan dingin. Tambahkan larutan 2 g *natrium sulfit anhidrat P* dalam 20 ml air, kemudian tambahkan 2 ml *asam klorida P*. Encerkan dengan air hingga 200 ml, biarkan selama paling sedikit 1 jam. Larutan dibuat segar.

**Furfural P** *2-Furankarboksilaldehid*; *2-furaldehid*;  $C_4H_3OCHO$ ; BM 96,08; [98-01-1].

*Pemerian* Cairan hasil destilasi jernih, tidak berwarna, tetapi segera menjadi cokelat kemerahan.

*Kelarutan* Larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol.

*Jarak destilasi* Tidak kurang dari 95% terdestilasi antara 159° dan 162°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Harus didestilasi sebelum digunakan.

**Galaktosa P** *D-Galaktosa*;  $C_6H_{12}O_6$ ; BM 180,2; [59-23-4].

*Pemerian* Serbuk hablur berwarna putih.

*Suhu lebur* Lebih kurang 164°.

*Rotasi jenis*  $[\alpha]^{20}_D$  Lebih kurang + 80° (10% b/v dalam air mengandung 0,05%  $NH_3$ ).

**Garam natrium asam 1-pentasulfonat P** Gunakan *natrium 1-pentanasulfonat P*.

**Garam natrium asam kromotropat P** *Dinatrium 4,5-dihidroksinaftalena-2,7-disulfonat*;  $C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2H_2O$ ; BM 400,3; [5808-22-0]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk, berwarna cokelat muda.

**Garam biru B tahan cuci P** Gunakan *Fast blue B, garam P*.

**Garam empedu P** Garam empedu adalah empedu sapi pekat, dengan kandungan utama natrium desoksikolat, yang ditetapkan sebagai asam kolat. Mengandung tidak kurang dari 45% asam kolat.

*Kelarutan* Larut dalam air dan dalam etanol; larutan berbusa kuat jika dikocok.

*Zat tak larut* Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 5 g zat dalam 100 ml *etanol P* (84 dalam 100), jika perlu hangatkan untuk membantu pelarutan. Saring dalam waktu 15 menit melalui penyaring yang telah ditara, cuci beberapa kali, tiap kali dengan sejumlah kecil *etanol P* (84 dalam 100) hingga cucian terakhir tak berwarna atau praktis tidak berwarna. Kemudian keringkan residu pada suhu 105° selama 1 jam dan timbang.

*Penetapan kadar*

*Larutan baku* Timbang saksama lebih kurang 50 mg *asam kolat P*, larutkan dalam larutan *asam asetat P* (6 dalam 10) hingga 100 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, larutkan dalam 50 ml larutan *asam asetat P*, (6 dalam 10) saring larutan jika perlu, masukkan ke dalam labu tentukur 100 ml. Cuci wadah dan penyaring beberapa kali dengan sejumlah kecil larutan *asam asetat P* (6 dalam 10) sampai tanda. Pipet 10 ml larutan ini, encerkan dengan larutan *asam asetat P* (6 dalam 10) hingga 100 ml.

*Prosedur* Pipet masing-masing 1 ml *Larutan baku* dan *Larutan uji*, masukkan secara terpisah ke dalam 2 tabung reaksi sepadan. Ke dalam tiap tabung tambahkan 1,0 ml larutan segar *furfural P* (1 dalam 100), segera letakkan dalam tangas es selama 5 menit, tambahkan ke dalam masing-masing tabung 13,0 ml asam sulfat encer yang dibuat dengan mencampur secara hati-hati 50 ml *asam sulfat P* dengan 65 ml air. Letakkan tabung ke dalam tangas air pada suhu 70° selama 10 menit. Segera pindahkan ke dalam tangas air selama 2 menit, dan ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 670 nm. Hitung jumlah dalam mg asam kolat (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>), dalam garam empedu yang digunakan dengan rumus:

$$500 \left( \frac{A_u}{A_s} \right)$$

*A<sub>u</sub>* dan *A<sub>s</sub>* berturut turut adalah serapan *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

**Garam fast blue B P** Gunakan "Fast blue" B, *garam P*.

**Garam nitroso R P** Gunakan *Nitroso R*, *garam P*.

**Gelatin LP** Larutkan 340 g prekursor gelatin yang telah diperlakukan dengan asam (Tipe A) dalam air hingga 100 ml. Panaskan larutan dalam otoklaf pada suhu 115° selama 30 menit setelah mencapai 115°. Dinginkan dan tambahkan 10 g *fenol P* dalam 1000 ml air.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah kedap, tidak tembus cahaya. Harus didestilasi sebelum digunakan.

**Glioksal-bis(-2-hidroksianil) P** *Bis(-2-hidroksifenil-imino)etana*; C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; BM 240,3; murni pereaksi.

*Suhu lebur* Lebih kurang 200°.

**Gliserol P** *Gliserin P*; *Propana-1,2,3-triol*; C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>; BM 92,10; [56-81-5]; murni pereaksi.

*Pemerian* Cairan kental tidak berwarna.

*Bobot per ml* Lebih kurang 1,26 g.

**Glisin P** Gunakan *Glisin* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**D-Glukosa P** *Dektrosa P*; C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>; BM 180,2; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur atau granul, putih.

*Kelarutan* Larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol.

*Rotasi jenis* Lebih kurang +52,5° (10% dalam air yang mengandung ammonium hidroksida lebih kurang 0,2%).

**Granul Zink P** Gunakan zink, *granul P*.

**Guanin hidroklorida P** C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O.HCl.H<sub>2</sub>O; BM 205,60; [635-39-2].

*Pemerian* Serbuk hablur, putih. Melebur di atas 250° disertai peruraian.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam air yang diasamkan dan dalam *natrium hidroksida LP*. Larutan ini tidak mengendap dengan *iodum LP* atau *kalium raksa(II) iodida LP*, tetapi membentuk endapan dengan *trinitrofenol LP*.

*Sisa pemijaran* Dapat diabaikan; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 100 mg zat.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 10,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° sampai bobot tetap.

**Heksadesil heksadekanoat P** *Heksadesil palmitat*; *setil palmitat*; C<sub>32</sub>H<sub>64</sub>O<sub>2</sub>; BM 480,85; [540-10-3]; Gunakan mutu yang sesuai.

**Heksametildisilazana P** C<sub>6</sub>H<sub>19</sub>NSi<sub>2</sub>; BM 161,39; [999-97-3]; Mengandung tidak kurang dari 95% C<sub>6</sub>H<sub>19</sub>NSi<sub>2</sub>.

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna; berbau khas.

*Sisa penguapan* Tidak lebih dari 0,0025%; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 200 g zat dalam cawan yang telah ditara, uapkan di atas tangas uap sampai kering. Keringkan residu pada suhu 105° selama 1 jam, dinginkan dan timbang.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Suntikkan zat secukupnya ke dalam kromatograf yang dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 2 mm x 1,8 m, berisi fase diam G3 dengan partikel penyangga S1. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa dengan laju alir 40 ml per menit. Pertahankan suhu injektor dan detektor masing-masing pada 100° dan 310°. Suhu kolom dimulai pada suhu 35° selama

5 menit, kemudian naikan suhu dengan kecepatan 8° per menit hingga 200°.

**Heksamin P** *Heksametilentetramina*;  $C_6H_{12}N_4$ ; BM 140,2; [100-97-0]; murni pereaksi.

**n-Heksana P**;  $C_6H_{14}$ ; BM 86,18; [110-54-3]; (Untuk digunakan dalam spektrofotometri) gunakan *heksan P*.

**Heksana P** (Mutu sesuai untuk spektrofotometri ultraviolet); biasanya merupakan campuran dari beberapa isomer heksana ( $C_6H_{14}$ ), terutama n-heksana dan metilsiklopentana ( $C_6H_{12}$ ); murni pereaksi.

**Heksana pelarut P** *Petroleum benzin; Petroleum eter P, Ligroin*; [8032-32-4]

*Pemerian* Cairan jernih, mudah menguap, berbau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air; larut dalam etanol mutlak; dapat bercampur dengan eter, dengan kloroform, dengan benzen dan dengan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri. [*Perhatian Cairan sangat mudah terbakar. Jauhkan dari nyala api dan simpan di tempat sejuk, dalam wadah tertutup rapat.*]

*Penampilan dan warna* Campur baik-baik isi dalam wadah asli, kemudian tuangkan 100 ml ke dalam tabung perbandingan warna 100 ml dan bandingkan dengan baku, di dalam tabung serupa yang berisi 2 ml *platinum kobalt LP*; kedua cairan mempunyai kejernihan yang sama dan bebas dari bahan yang tersuspensi atau endapan dan jika dilihat dengan cahaya tembus, warna zat uji tidak lebih dari gelap dari baku.

*Bau* Berbau tidak mengganggu atau seperti merkaptan atau tiofena.

*Jarak destilasi* Tidak kurang dari 100% terdestilasi pada suhu antara 30° dan 60°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, dengan mendestilasi sejumlah 100 ml, tidak ada yang terdestilasi pada suhu 30°.

*Sisa penguapan* Tidak lebih dari 0,001%. Uapkan 150 ml (100 g) zat pada tangas uap, dan keringkan pada suhu 105° selama 30 menit: bobot residu tidak lebih dari 1 mg.

*Keasaman Kocok* 10 ml zat dengan 5 ml air selama 2 menit, dan biarkan memisah menjadi 2 lapisan: lapisan air tidak mengubah lakmus biru menjadi merah dalam waktu 15 detik.

*Minyak berat dan lemak* Tuangkan secara bertahap 10 ml zat ke bagian tengah dari kertas saring bersih: tidak ada bau tidak enak dan tidak ada kelihatan bercak lemak pada kertas setelah didiamkan selama 30 menit.

**Heksanitrodifenilamina P** *Dipikrilamina P*;  $C_{12}H_8N_7O_{12}$ ; BM 439,21; [131-73-7].

*Pemerian* Serbuk atau prisma kuning emas, mudah meledak; umumnya mengandung tidak kurang 15% air untuk menghindari bahaya meledak.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air, dalam etanol, dalam aseton dan dalam eter; larut dalam asam asetat glasial dan dalam larutan alkali.

*Air <1031> Metode I* Tidak lebih dari 16%.

**Heksilamina P** *1-Aminoheksan*;  $C_6H_{15}N$ ; BM 101,19; [111-26-2]; murni pereaksi.

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Suhu didih* Antara 127° dan 131°.

*Bobot per ml* Lebih kurang 0,766 g.

*Indeks bias* Lebih kurang 1,418.

**Helium P** He; BM 4,003; [7440-59-7]. Mengandung tidak kurang dari 99,995% volume He.

**n-Heptan P** *Gunakan n-Heptan untuk kromatografi P*.

**n-Heptan untuk kromatografi P**  $C_7H_{16}$ ; BM 100,21; [142-82-5].

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar; bau khas. Terutama terdiri dari  $C_7H_{16}$ . Gunakan mutu kromatografi atau KCKT dengan kadar tidak kurang dari 99%.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air; larut dalam etanol mutlak; bercampur dengan eter, dengan kloroform, dengan benzen dan dengan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri.

[*Catatan n-Heptan dapat dimurnikan dengan melewatkannya melalui kolom silika gel dengan perbandingan lebih kurang 25 g gel untuk tiap 100 ml n-heptan yang digunakan, kemudian destilasi fraksi.*]

*Jarak didih* Antara 94,5° dan 99,0°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Kemurnian spektrum* Ukur serapan pada 250 nm, gunakan air sebagai blangko: serapan tidak lebih dari 0,10.

*Sisa penguapan* Memenuhi syarat uji *Sisa penguapan* yang tertera pada *Heksan pelarut P*.

**Hidrazin hidrat P, 85% dalam air**  $(NH_2)_2.H_2O$ ; BM 50,06; [7803-57-8]; Mengandung tidak kurang dari 83%  $(NH_2)_2.H_2O$ .

*Pemerian* Cairan tidak berwarna.

*Penetapan kadar* Timbang saksama 600 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10 ml ke dalam gelas piala yang sesuai, tambahkan 1,0 g *natrium bikarbonat P* dan 50,0 ml *iodum 0,1 N LV*. Titrasi kelebihan iodium dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV* menggunakan indikator *kanji LP*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml iodium 0,1 N setara dengan 12,52 mg  $(NH_2)_2.H_2O$*

**Hidrazin sulfat P**  $(NH_2)_2.H_2SO_4$ ; BM 130,12; [10034-93-2]; murni pereaksi. [*Perhatian Hati-hati dalam penggunaan karena diduga karsinogen.*]

**Hidrogen peroksida P, 30%  $H_2O_2$** ; BM 34,01; [7722-84-1]; murni pereaksi. Tidak stabil, kadar antara 29,0% dan 32%, tanpa penambahan penstabil.

**Hidrogen peroksida LP** Gunakan *Larutan Topikal Hidrogen Peroksida* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Hidrogen sulfida P** *Asam sulfida P*;  $H_2S$ ; BM 34,08; [7783-06-4].

*Pemerian* Gas tidak berwarna, bau khas, beracun, lebih berat dari udara. Dibuat dengan mencampur besi(II) sulfida dengan asam sulfat encer atau asam klorida encer. Jenis sulfida lain, yang dapat menghasilkan hidrogen sulfida dengan asam encer, dapat digunakan. Dapat juga berupa gas mampat dalam tabung.

*Kelarutan* Larut dalam air.

**Hidrogen sulfida LP** Larutan jenuh hidrogen sulfida, yang dibuat dengan mengalirkan  $H_2S$  ke dalam air dingin. Simpan dalam botol berwarna gelap, isi hampir penuh. Larutan tidak boleh digunakan lagi jika tidak berbau  $H_2S$  kuat, dan tidak segera membentuk endapan sulfur jika ditambahkan kepada besi(III) klorida LP volume sama. Simpan di tempat gelap dan dingin.

**4-Hidroksibifenil P** bifenil-4-ol; 4-Fenilfenol;  $C_6H_5.C_6H_4.OH$ ; BM 170,2; [92-69-3]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur tidak berwarna atau serbuk hablur putih.

*Suhu lebur* <1021> Lebih kurang  $166^\circ$ .

**Hidroksilamin hidroklorida P**  $NH_2OH.HCl$ ; BM 69,49; [5470-11-1]; murni pereaksi.

**Hidroksilamin hidroklorida LP** Larutkan 3,5 g *hidroksilamin hidroklorida P* dalam 95 ml *etanol P* 60%, dan tambahkan 0,5 ml larutan *biru bromfenol P* (1 dalam 1000) dan *kalium hidroksida etanol 0,5 N* hingga larutan berwarna kehijauan. Kemudian tambahkan *etanol P* 60% hingga 100 ml.

**Hidroksitoluen terbutilasi P** *2,6-Di-tercier-butyl-p-kresol*; butil hidroksi toluen;  $C_{15}H_{24}O$  BM 220,4; [128-37-0]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur tidak berwarna atau putih.

*Suhu lebur* <1101> Lebih kurang  $70^\circ$ .

**Hidrokuinon P**  $C_6H_4(OH)_2$ ; BM 110,11; [123-31-9]. Mengandung tidak kurang dari 99%  $C_6H_4(OH)_2$ .

*Pemerian* Hablur jarum halus, tidak berwarna atau putih. Warna menjadi gelap jika terpapar udara dan cahaya.

*Kelarutan* Larut dalam air, dalam etanol dan dalam eter.

*Jarak lebur* <1021> Antara  $172^\circ$  dan  $174^\circ$ .

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, larutkan dalam campuran 100 ml air dan 10 ml *asam sulfat 0,1 N*, tambahkan 3 tetes larutan *difenilamin P* dalam *asam sulfat P* (1 dalam 100) dan titrasi dengan *serium(IV) sulfat 0,1 N LV* hingga larutan berwarna merah-ungu.

*Tiap ml serium(IV) sulfat 0,1 N setara dengan 5,506 mg  $C_6H_4(OH)_2$*

**Hijau berlian P** Gunakan *hijau berlian P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Hijau bromokresol P** Gunakan *hijau bromokresol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Hijau bromokresol LP** Larutkan 50 mg *hijau bromokresol P* dalam 100 ml *etanol P*, saring jika perlu.

**Hijau malakit P** Gunakan *hijau berlian P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Hijau malakit LP** Larutkan 1 g *hijau malakit oksalat P* dalam 100 ml *asam asetat glasial P*.

**Hijau malakit oksalat P** Gunakan *hijau malakit oksalat P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Hijau metil P** CI 42585;  $C_{28}H_{33}Cl_2N_3$ ; BM 458,5; [7114-03-6]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hijau.

**Hipoksantin P** *6-Hidroksipurin*;  $C_5H_4N_4O$ ; BM 136,11; [68-94-0]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk putih atau putih kekuningan.

*Kelarutan* Larut dalam natrium hidroksida 1 N.

**Hitam eriokrom T P** Gunakan *hitam eriokrom T P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Hitam eriokrom T LP** Larutkan 200 mg *hitam eriokrom T P* dan 2 g *hidroksilamin hidroklorida P* dalam *metanol P* hingga 50 ml.

**Hitam mordant 11 P** Gunakan *hitam eriokrom T P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Hitam mordant campur P** Campurkan 1 bagian *hitam mordant 11 P* dengan 99 bagian *natrium klorida P*.

**Hitam naftalen 12 B P** *Hitam amido 10 B*; CI 20470;  $C_{22}H_{14}N_4Na_2O_9S_2$ ; BM 588,5; [1064-48-8].

*Pemerian* Cokelat tua.

*Kelarutan* Larut dalam air.

**Hitam naftalen LP** Larutan *Hitam naftalen 12 B P* 1,0% dalam *asam asetat 1 M*.

**Holmium oksida P**;  $Ho_2O_3$ ; BM 377,9; [12055-62-8]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk kekuningan.

**Holmium Perklorat LP** Larutan *holmium oksida P* 5% dalam *asam perklorat 1,4 M*.

**Homatropin hidrobromida P** Gunakan *Homatropin hidrobromida* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Imidazol P**  $C_3H_4N_2$ ; BM 68,08; [228-32-4] Hablur putih hingga kuning muda. Larut dalam air; murni pereaksi.

**Iminostilben P**  $C_{14}H_{11}N$ ; BM 193,25; [256-96-2]  
*Pemerian* Serbuk, jingga kuning.  
*Kelarutan* Agak sukar larut dalam etil asetat.  
*Jarak lebur* <1021> Antara 197° dan 201°.

**Indigo karmin P** *Natrium indigotindisulfonat P*; biru asam 74; CI 73015;  $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$ ; BM 466,4; [860-22-0]; murni pereaksi.  
*Pemerian* Serbuk berwarna biru tua atau granul dengan kilat tembaga.

**Indigo karmin LP** *Natrium Indigotindisulfonat LP* Larutkan sejumlah *natrium indigotindisulfonat P* setara dengan 180 mg  $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$ , dalam air hingga 100 ml. Gunakan sebelum 60 hari.

**Indofenol-asetat LP** Ke dalam 60 ml *Larutan baku diklorofenol-indofenol* seperti tertera pada *Larutan volumetrik*, tambahkan air hingga 250 ml. Tambahkan sejumlah volume sama larutan natrium asetat yang dibuat segar dengan melarutkan 13,66 g *natrium asetat anhidrat P* dalam air hingga 500 ml dan atur pH hingga 7 dengan *asam asetat 0,5 N*. Simpan dalam lemari pendingin dan gunakan dalam 2 minggu.

**Injeksi natrium klorida P** Gunakan *Injeksi natrium klorida* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Iodobromida LP** Larutkan 20 g *iodum monobromida P* dengan *asam asetat glasial P* hingga volume 1000 ml. Simpan dalam wadah kaca, terlindung dari cahaya.

**Iodoklorida LP** Larutkan 16,5 g *iodum monoklorida P* dalam 1000 ml *asam asetat glasial P*.

**Iodoplatinat LP** Larutkan 300 mg *platina(IV) klorida P* dalam 97 ml air. Segera sebelum digunakan, tambahkan 3,5 ml *kalium iodida LP*, dan campur.

**Iodium P**  $I_2$ ; BM 253,81; [7553-56-2]; murni pereaksi.

**Iodium LP** Gunakan *Iodium 0,1 N LV* seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.

**Iodium bromida P** IBr; BM 206,81; [7789-35-5] Hablur berwarna hitam kebiruan atau hitam kecokelatan dengan uap yang memedihkan mata.

**Iodium-kalium iodida LP** Larutkan 500 mg *iodum P* dan 1,5 g *kalium iodida P* dalam 25 ml air.

**Iodium monoklorida P** ICl; BM 162,36; [7790-99-0]; murni pereaksi.

**Isi kolom untuk kromatografi cair kinerja tinggi** Seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Isi kolom untuk kromatografi gas P** Seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Isoamil alkohol P** Gunakan *amil alkohol P*.

**Isobutil alkohol P** *2-Metil-1-propanol P*;  $(CH_3)_2CHCH_2OH$ ; BM 74,12; [78-83-1]; murni pereaksi.

**Isoniazid P** Gunakan *Isoniazid* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Isooktana P** Gunakan *2,2,4-trimetil-pentana P*.

**Isopentil alkohol P** Gunakan *amil alkohol P*.

**Isopropanol P** Gunakan *isopropil alkohol P*.

**Isopropil alkohol P** *2-Propanol P*;  $(CH_3)_2CHOH$ ; BM 60,10; [67-63-0]; murni pereaksi.

**Isopropanol dehidrat P** *Isopropanol mutlak P*; [67-63-0]. Gunakan isopropanol yang terlebih dahulu telah dikeringkan dengan cara pengocokan menggunakan penjerap air berukuran molekul yang sesuai, saring.

**Isopropilamin P** *2-Aminopropan*;  $C_3H_7NH_2$ ; BM 59,11. Mengandung tidak kurang dari 98%  $C_3H_7NH_2$ .

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna, cairan mudah terbakar; memiliki bau amoniak yang kuat.

*Kelarutan* Bercampur dengan air, dengan etanol dan dengan eter.

*Jarak destilasi* Tidak kurang dari 95% terdestilasi antara suhu 31° dan 33°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,3743 dan 1,3753; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 50 ml air, dan campur. Titrasi dengan *asam klorida 0,1 N LV*, menggunakan indikator campuran merah metil LP dan hijau bromokresol LP (1:5).

*Tiap ml asam klorida 0,1 N setara dengan 59,11 mg  $C_3H_7NH_2$*

**Isopropil eter P** Gunakan *diisopropil eter P*.

**Isopropil miristat P**  $C_{17}H_{34}O_2$ ; BM 270,45; [110-27-0]; terdiri dari ester isopropil alkohol dan asam lemak tak jenuh berbobot molekul tinggi, terutama asam miristat, mengandung tidak kurang dari 90,0%  $C_{17}H_{34}O_2$ .

*Baku pembanding* *Isopropil Miristat BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. *Isopropil*

*Palmitat BPFi*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan.

*Identifikasi Waktu retensi puncak utama Larutan uji* sesuai dengan waktu retensi puncak utama *Larutan baku* pada *Penetapan kadar*.

*Bobot jenis* <981> Antara 0,846 dan 0,854.

*Bilangan asam* <491> Tidak lebih dari 1.

*Bilangan iodum* <491> Tidak lebih dari 1.

*Bilangan penyabunan* <491> Antara 202 dan 212.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,432 dan 1,436; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 0,1%.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

*Larutan kesesuaian sistem* Timbang saksama lebih kurang 45 mg *Isopropil Miristat BPFi* dan 5 mg *Isopropil Palmitat BPFi*, larutkan dalam 10,0 ml *n-heksan P*.

*Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 125 mg zat, larutkan dalam 25,0 ml *n-heksan P*.

*Sistem kromatografi* Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom 1,8 m x 4 mm berisi bahan pengisi 10% fase diam *G8* dengan partikel penyangga *SI* 100 mesh hingga 120 mesh. Atur suhu kolom dari 90° ke 210° dengan kecepatan 2° per menit dan setelah mencapai 210° pertahankan suhu selama 8 menit. Pertahankan suhu detektor pada 280° dan suhu injektor pada 240°. Gunakan *nitrogen P* sebagai gas pembawa dengan laju alir 45 ml per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi relatif isopropil miristat dan isopropil palmitat berturut-turut adalah 1 dan 1,3; resolusi, *R*, antara puncak isopropil miristat dan isopropil palmitat tidak kurang dari 6,0; faktor ikutan puncak isopropil palmitat tidak lebih dari 2,0 dan simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2,0%.

*Prosedur* Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 5 µl) *Larutan kesesuaian sistem* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung persentase  $C_{17}H_{34}O_2$ , dalam zat dengan rumus:

$$\frac{100 A}{B}$$

*A* adalah respons puncak isopropil miristat; *B* adalah jumlah semua respons puncak kecuali puncak pelarut.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup kedap, tidak tembus cahaya.

*Untuk penggunaan sebagai pelarut dalam prosedur uji sterilitas*. *Isopropil miristat P* harus memenuhi spesifikasi tambahan berikut:

*pH ekstrak air* Masukkan 100 ml zat ke dalam botol sentrifuga 250 ml, tambahkan 10 ml air yang disuling 2 kali, tutup botol dengan sumbat yang sesuai, dan kocok kuat selama 60 menit. Sentrifus pada 1800 rpm selama

20 menit, pisahkan lapisan atas (isopropil miristat), dan tetapkan pH lapisan air: pH tidak kurang dari 6,5. Isopropil miristat yang tidak memenuhi uji pH ekstrak air dapat disiapkan untuk digunakan dalam uji sterilitas sebagai berikut: Gunakan kolom kaca 20 mm x 20 cm, masukkan *alumina P* yang telah diaktifkan dan dimampatkan hingga tinggi 15 cm. Lewatkan 500 ml *Isopropil miristat P* melalui kolom, menggunakan sedikit tekanan positif untuk menjaga aliran, dan gunakan segera eluat yang dikumpulkan untuk uji sterilitas.

**Jingga metil P** Gunakan *Jingga metil P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Jingga xilenol P** Gunakan *Jingga xilenol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Jingga xilenol LP** Larutkan 100 mg *Jingga xilenol P* dalam 100 ml *etanol P*.

**Jingga xilenol campur P** Gerus 1 bagian *Jingga xilenol P* dengan 99 bagian *kalium nitrat P*.

*Kepekaan* Tambahkan 50 mg zat dalam campuran 50 ml air, 1 ml *asam asetat 2 N* dan 0,05 ml *timbal(II) nitrat 0,1 M*. Tambahkan *heksamina P* secukupnya untuk mengubah warna dari kuning menjadi lembayung, dan tambahkan 0,1 ml *dinatrium edetat 0,1 M LV*; warna berubah kuning.

**Kadmium P Cd**; BM 112,4.

*Pemerian* Putih keperak-perakan, kilat logam.

*Kelarutan* Mudah larut dalam asam nitrat dan asam klorida panas.

**Kadmium asetat P**  $C_4H_6CdO_4$ ; BM 266,5; [543-90-8].

*Pemerian* Hablur tidak berwarna, transparan hingga tembus cahaya.

*Kelarutan* Sangat larut dalam air, larut dalam etanol.

**Kadmium sulfat P**  $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ ; BM 769,5; [7790-84-3]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ . [*Perhatian Kadmium dan garam-garamnya termasuk dalam daftar senyawa karsinogenik.*]

*Pemerian* Hablur tidak berwarna atau serbuk hablur putih.

*Kelarutan* Larut dalam air.

*Penetapan kadar* Larutkan 1 g dalam 50 ml air, tambahkan 25 ml *amonium hidroksida P*, titrasi dengan *dinatrium edetat 0,1 M*, menggunakan indikator campuran biru *metiltimol P* hingga tidak berwarna.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,1 M*  
setara dengan 25,65 mg  $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$

**Kalium antimonat P**  $KSbO_3 \cdot 3H_2O$  BM 262,9; murni pereaksi.

**Kalium antimonat LP** Larutkan 2g *kalium antimonat P* dalam 95 ml air panas. Dinginkan segera dan tambahkan larutan yang mengandung 2,5 g kalium hidroksida dalam 50 ml air dan 1 ml *natrium hidroksida 2 N*. Diamkan selama 24 jam, saring dan encerkan dengan air sampai 150 ml.

**Kalium asetat P**  $KC_2H_3O_2$ ; BM 98,14; [127-08-2]; murni pereaksi.

**Kalium asetat LP** Larutkan 10 g *kalium asetat P* dengan air hingga 100 ml.

**Kalium besi(III) sianida P**  $K_3Fe(CN)_6$ ; BM 329,24; [13746-66-2]; murni pereaksi.

**Kalium bifosfat P** Gunakan *kalium fosfat monobasa P*.

**Kalium bikromat P**  $K_2Cr_2O_7$ ; BM 294,18; [7778-50-9]; murni pereaksi.

**Kalium bikromat LP** Larutkan 7,5 g *kalium bikromat P* dalam air hingga 100 ml.

**Kalium bismut iodida LP** Larutkan 12,5 mg *asam tatarat P* dalam 25 ml air. Kemudian larutkan 1,06 g *bismut subnitrat P* dalam campuran ini (*Larutan A*). Larutkan 20 g *kalium iodida P* dalam 25 ml air (*Larutan B*). Larutkan 100 g *asam tartrat P* dalam 450 ml air (*Larutan C*). Tambahkan *Larutan A*, *Larutan B* ke dalam *Larutan C*, campur.

**Kalium bisulfat P**  $KHSO_4$ ; BM 136,17 [7646-93-7].

*Pemerian* Butiran atau massa berwarna putih; di udara menjadi lembab dan melebur. Jika dipijarkan menghasilkan  $SO_3$  dan  $H_2O$ ; mula-mula berubah menjadi kalium piro-sulfat kemudian menjadi kalium sulfat.

*Keasaman* Antara 34% dan 36%, dihitung sebagai  $H_2SO_4$ ; lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 4 g zat, larutkan dalam 50 ml air, tambahkan *fenolftalein LP* dan titrasi dengan alkali 1 N.

*Zat tak larut dan endapan amonium hidroksida* Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 10 g zat dalam 100 ml air, tambahkan *merah metil LP*, buat sedikit alkalis dengan *amoniam LP*, dididihkan selama 1 menit, lanjutkan pemanasan di atas tangas uap selama 1 jam. Saring melalui krus penyaring yang telah ditara, cuci dan keringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam: residu tidak boleh lebih dari 1 mg (0,01%).

*Logam berat* Tidak lebih dari 10 bpj, dihitung sebagai Pb. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi* menggunakan *Larutan uji* yang dibuat sebagai berikut: Larutkan 6 g zat dalam 45 ml air, tambahkan 2 ml *asam klorida P*, dididihkan hati-hati selama 10 menit, dinginkan dan encerkan dengan air hingga 60 ml.

Pada 30 ml *Larutan uji* tambahkan *fenolftalein LP* dan netralkan dengan *amoniam LP*. Tambahkan 0,5 ml *asam asetat glasial P*, encerkan dengan air hingga 40 ml, dan tambahkan 10 ml *hidrogen sulfida LP*: warna cokelat

yang terjadi tidak boleh lebih tua dari pembanding yang mengandung 10 ml *Larutan uji* dan 0,02 mg Pb yang ditambahkan.

*Besi <331>* Tidak lebih dari 20 bpj. Pada 5 ml *Larutan uji* tambahkan 2 ml *asam klorida P*, dan encerkan dengan air hingga 47 ml: larutan tidak boleh lebih tua dari 0,01 mg Fe.

**Kalium bromat P**  $KBrO_3$ ; BM 167,00; [7758-01-2]; murni pereaksi.

**Kalium bromida P**  $KBr$ ; BM 119,00; [7758-02-3]; murni pereaksi.

**Kalium bromida IR P** *Pereaksi spektroskopi*.

Kalium bromida untuk spektroskopik harus memenuhi uji seperti tertera pada *Spektrum Serapan Cahaya Inframerah dalam Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>*. Cakram dengan ketebalan 2 mm disiapkan dari bahan yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu  $250^\circ$  selama 1 jam, mempunyai garis datar yang rata di atas daerah  $4000\text{ cm}^{-1}$  hingga  $620\text{ cm}^{-1}$ ; tidak menunjukkan serapan maksimum lebih dari 0,02 di atas garis datar dengan pengecualian puncak air pada  $3440\text{ cm}^{-1}$  dan  $1630\text{ cm}^{-1}$ .

**Kalium dihidrogen fosfat P**  $KH_2PO_4$ ; BM 136,09 [7778-77-0]; Gunakan *kalium fosfat monobasa P*; murni pereaksi.

**Kalium ferisianida P**  $K_3Fe(CN)_6$ ; BM 329,24 [13746-66-2]; murni pereaksi.

**Kalium ferostanida P**  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ ; BM 422,39 [13943-58-3] Gunakan *kalium heksasianoferat(II) P*; murni pereaksi.

**Kalium fosfat dibasa P** *Dikalium hidrogen fosfat P*; *Dikalium fosfat P*;  $K_2HPO_4$ ; BM 174,18 [7758-11-4]; murni pereaksi.

**Kalium fosfat monobasa P** *Kalium bifosfat P*; *Kalium dihidrogen fosfat P*;  $KH_2PO_4$ ; BM 136,09 [7778-77-0]; murni pereaksi.

**Kalium heksasianoferat(II) P** *Kalium ferisianida P*;  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ ; BM 422,39; [13943-58-3]; murni pereaksi.

**Kalium heksasianoferat(II) LP** Larutkan 1g *kalium heksasianoferat(II) P* dalam 10 ml air. Larutan dibuat segar.

**Kalium heksasianoferat(III) P** *Kalium ferisianida P*; *Kalium besi(III) sianida P*;  $K_3Fe(CN)_6$ ; BM 329,25; [13746-66-2]; murni pereaksi.

**Kalium heksasianoferat(III) LP** Larutkan 1 g *kalium heksasianoferat(III) P* dalam 10 ml air. Larutan dibuat segar.



**Kalium hidroksida P** KOH; BM 56,11; [1310-58-3]; murni pereaksi.

**Kalium hidroksida LP** Larutkan 6,5 *Kalium hidroksida P* dalam air hingga 100 ml.

**Kalium hidroksida etanol P** Gunakan *Kalium hidroksida etanol 0,5 N* seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.

**Kalium iodat P** KIO<sub>3</sub>; BM 214,00; [7758-05-6]; murni pereaksi.

**Kalium iodida P** KI; BM 166,00; [7681-11-0]; murni pereaksi.

**Kalium iodida LP** Larutkan 16,5 g *kalium iodida P* dalam air hingga 100 ml.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tidak tembus cahaya.

**Kalium iodobismutat LP** Gunakan *Kalium bismut iodida LP*.

**Kalium iodobismutat asetat LP** Larutkan 8 g *kalium iodida P* dalam 20 ml air dan masukkan larutan ke dalam campuran 0,85 g *bismut subnitrat P*, 40 ml air dan 10 ml *asam asetat glasial P*.

**Kalium iodobismutat encer LP** Larutkan 10 g *asam tartrat P* dalam 50 ml air dan tambahkan 5 ml *kalium iodobismutat LP*.

**Kalium iodobismutat termodifikasi LP** Suspensikan 1,7 g *bismut subnitrat P* dan 20 g *asam tartrat P* dalam 40 ml air. Tambahkan 40 ml larutan *kalium iodida P* 40,0 %, aduk selama 1 jam dan saring. Larutan dapat disimpan beberapa hari terlindung dari cahaya. Segera sebelum digunakan, campur 5 ml larutan persediaan dengan 15 ml air.

**Kalium iodoplatinat LP** Larutkan 200 mg *platina (IV) klorida P* dalam 2 ml air, campur dengan 25 ml larutan *kalium iodida P* (1 dalam 25 ml), dan tambahkan air hingga 50 ml.

**Kalium karbonat P** Gunakan *kalium karbonat anhidrat P*.

**Kalium karbonat anhidrat P** K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; BM 138,21; [584-08-7]; murni pereaksi.

**Kalium klorat P** KClO<sub>3</sub>; BM 122,55 [3811-04-9]; murni pereaksi.

**Kalium klorida IR P** *Pereaksi spektroskopi* Kalium klorida untuk spektroskopik harus memenuhi uji seperti tertera pada *Spektrum Serapan Cahaya Inframerah dalam Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>*. Cakram dengan ketebalan 2 mm disiapkan dari bahan yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 250°

selama 1 jam, mempunyai garis datar yang rata di atas daerah 4000 cm<sup>-1</sup> hingga 620 cm<sup>-1</sup>; tidak menunjukkan serapan maksimum lebih dari 0,02 di atas garis datar dengan pengecualian puncak air pada 3440 cm<sup>-1</sup> dan 1630 cm<sup>-1</sup>.

**Kalium kloroplatinat P** K<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub>; BM 485,99. Mengandung tidak kurang dari 40% K<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub>.

*Pemerian* Serbuk kuning, berat.

*Kelarutan* Larut dalam asam klorida dan dalam asam nitrat.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala, tambahkan 20 ml *asam klorida P* dan jika perlu panaskan hingga larut sempurna. Tambahkan *serbuk zink P* perlahan-lahan sampai tidak ada lagi yang terlarut, kemudian tambahkan 2 ml *asam klorida P* dan digesti di atas tangas uap selama 1 jam untuk mengkoagulasikan platina tereduksi. Tambahkan sedikit asam jika perlu hingga seluruh serbuk zink melarut. Saring melalui kertas saring. Bilas gelas piala dengan *asam klorida encer P* sampai seluruh endapan pindah ke kertas saring. Kemudian cuci dengan sedikit air. Pijar filtrat dalam cawan yang telah ditara pada suhu 800 ° ±25° sampai bobot tetap. Tiap mg residu setara dengan 1,0 mg platina.

**Kalium kromat P** K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>; BM 194,19; [7789-00-6]; murni pereaksi.

**Kalium kromat LP** Larutkan 10 g *kalium kromat P* dalam air hingga 100 ml.

**Kalium natrium tartrat P** KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O; BM 282,22; [6381-59-5]; murni pereaksi.

**Kalium nitrat P** KNO<sub>3</sub>; BM 101,10; [7757-79-1]; murni pereaksi.

**Kalium nitrit P** KNO<sub>2</sub>; BM 85,10; [7758-09-0]; murni pereaksi.

**Kalium permanganat P** KMnO<sub>4</sub>; BM 158,03; [7722-64-7]; murni pereaksi.

**Kalium permanganat LP** Gunakan *Kalium permanganat 0,1 N* seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.

**Kalium pirosulfat P** [7790-62-7] Biasanya tersedia sebagai campuran kalium pirosulfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) dan kalium bisulfat (KHSO<sub>4</sub>); murni pereaksi.

**Kalium raksa(II)-iodida LP** *Pereaksi Mayer*. Larutkan 1,358 g *raksa(II) klorida P* dalam 60 ml air. Larutkan 5 g *kalium iodida P* dalam 10 ml air. Campur kedua larutan tersebut, dan encerkan dengan air hingga volume 100 ml.

**Kalium raksa(II)-iodida alkalis LP** *Pereaksi Nessler*  
Larutkan 143 g *natrium hidroksida P* dalam 700 ml air. Larutkan 50 g *raksa(II) iodida merah P* dan 40 g *kalium iodida P* dalam 200 ml air. Tuang larutan iodida kedalam larutan hidroksida, encerkan dengan air hingga volume 1000 ml. Biarkan memisah sempurna, dan gunakan beningan lapisan atas.

**Kalium sianida P** KCN; BM 65,12; [151-50-8]; murni pereaksi.

**Kalium sianida LP** Larutan *kalium sianida P* 10%.

**Kalium sianida PbT LP** Larutkan 10 g *kalium sianida P* dalam 90 ml air, tambahkan 2 ml larutan *hidrogen peroksida P* 6%, diamkan selama 24 jam, encerkan dengan air hingga 100 ml saring.

**Kalium sulfat P** K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; BM 174,26; [7778-80-5]; murni pereaksi.

**Kalium telurit P** *Kalium telurit(IV)*; K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>; BM 253,79; [7790-58-1]. Mengandung tidak kurang dari 98% K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>.

*Pemerian* Serbuk granul putih.

*Kelarutan* Larut dalam air, larutan bersifat alkali.

*Klorida* Lakukan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*: 1 g kalium telurit tidak lebih dari 0,1 mg (0,01%).

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 120 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala, dan larutkan dalam campuran 10 ml *asam nitrat P*, 10 ml *asam sulfat P* dan 25 ml air. Panaskan hingga mendidih, lanjutkan pemanasan sampai asap dari belerang trioksida habis menguap. Dinginkan dan tambahkan hati-hati 100 ml air, panaskan hingga mendidih, tambahkan 6 g *natrium fluorida P*, dan titrasi larutan panas dengan *kalium permanganat 0,1 N LV*.

*Tiap ml kalium permanganat 0,1 N setara dengan 12,69 mg K<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>*

**Kalium tembaga(II) tartrat LP** Larutan *Fehling; Tembaga(II) tartrat alkalis LP*.

*Larutan A* Larutkan 34,64 g *tembaga(II) sulfat P* dalam campuran 0,5 ml *asam sulfat P* dan air secukupnya hingga 500 ml.

*Larutan B* Larutkan 173 g *kalium natrium tartrat P* dan 50 g *natrium hidroksida P* dalam air secukupnya hingga 500 ml.

Campur volume sama *Larutan A* dan *Larutan B* segera sebelum digunakan. Simpan dalam jumlah sedikit, dalam wadah yang tahan terhadap alkali.

**Kalium tiosianat P** KSCN; BM 97,18; [333-20-0]; murni pereaksi.

**Kalkon P** *Mordant black 17; CI nomor 15705; C<sub>20</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>S*; BM 416,4; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hitam kecokekatan dengan kilau ungu. Memberikan warna merah keunguan dengan ion

kalsium dalam larutan basa. Jika tidak terdapat ion logam, misalnya dengan adanya kelebihan dinatrium edetat, larutan berwarna biru.

**Kalkon campuran P** Campur 1 bagian *kalkon P* dengan 99 bagian *natrium sulfat anhidrat P* yang baru dipijarkan. Memenuhi uji berikut:

*Kepekaan terhadap kalsium* Larutkan 200 mg zat dalam 5 ml air. Pada 1 ml larutan tambahkan 50 ml air, 10 ml *natrium hidroksida 1 N* dan 1 ml larutan *magnesium sulfat P 1%*: terjadi warna biru. Tambahkan 0,1 ml larutan *kalsium klorida P 0,15%*: terjadi warna biru. Tambahkan 0,1 ml *dinatrium edetat 0,01 M LV*: terjadi warna biru murni.

**Kalsium asetat P** Ca(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O; BM 176,18 [5743-26-0].

*Pemerian* Serbuk hablur dan granul, warna putih.

*Kelarutan* Larut dalam lebih kurang 3 bagian air, sukar larut dalam etanol.

**Kalsium asetat anhidrat P** Ca(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; BM 158,2; murni pereaksi.

**Kalsium hidroksida P** Ca(OH)<sub>2</sub>; BM 74,09 [1305-62-0]; murni pereaksi.

**Kalsium hidroksida LP** Gunakan *Larutan Topikal Kalsium Hidroksida* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Kalsium karbonat P** CaCO<sub>3</sub>; BM 100,09 [471-34-1]; murni pereaksi.

**Kalsium klorida P** *Kalsium klorida dihidrat*; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O; BM 147,01; [10035-04-8]; murni pereaksi.

**Kalsium klorida LP** larutkan 7,5 g *kalsium klorida P* dalam air hingga 100 ml.

**Kalsium klorida anhidrat P** CaCl<sub>2</sub>; BM 110,98 [10043-52-4]; murni pereaksi.

**Kalsium pantotenat P** Gunakan *Kalsium Pantotenat* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Kalsium sulfat P** CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O; BM 172,17; [7778-18-9]; murni pereaksi.

**Kalsium sulfat LP** Larutan jenuh *kalsium sulfat P* dalam air.

**Kanji P** Gunakan *kanji larut P*.

**Kanji LP** Campur 0,2 g *kanji larut P* dengan 5 ml air dan tambahkan dengan pengadukan kontinyu sejumlah air hingga 100 ml. Didihkan selama beberapa menit, dinginkan dan gunakan hanya bagian larutan yang jernih. Larutan dibuat segar.

**Kanji iodida, pasta LP** Panaskan 100 ml air di dalam gelas piala 250 ml hingga mendidih, tambahkan larutan 750 mg kalium iodida P dalam 5 ml air, kemudian tambahkan larutan 2 g zink klorida P dalam 10 ml air: pada saat larutan mendidih, tambahkan sambil diaduk, suspensi halus 5 g kanji larut P dalam 30 ml air dingin. Lanjutkan hingga mendidih selama 2 menit, kemudian dinginkan.

*Wadah dan Penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik dan di tempat sejuk.

*Pasta kanji iodida LP* harus menunjukkan goresan biru yang nyata bila batang gelas yang dicelupkan ke dalam campuran 1 ml natrium nitrit 0,1M, 500 ml air dan 10 ml asam klorida P, digoreskan pada sapuan pasta.

**Kanji larut P** Amilum larut P; Pati larut P (untuk iodometri) [9005-84-9]; murni pereaksi.

**Kanji, lendir LP** Gerus 500 mg kanji P atau kanji larut P dengan 5 ml air, tambahkan air hingga 100 ml sambil diaduk, dididihkan selama beberapa menit dan saring.

**Kanji-kalium iodida LP** Larutkan 500 mg kalium iodida P dalam 100 ml kanji LP. Larutan dibuat segar.

**Kaolin ringan P** [1332-58-7] Aluminium silikat hidrat yang dimurnikan, mengandung bahan pendispersi yang sesuai.

**Kaolin, suspensi LP** Suspensikan 500 mg kaolin ringan P dalam 100 ml larutan natrium klorida P 0,9%. Campur segera sebelum digunakan.

**Karbomer P** [9007-20-9] Karbomer adalah suatu polimer ikatan silang dari asam akrilat. Mengandung 56% sampai 68% gugus asam karboksilat (COOH) di hitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada suhu 80° selama 1 jam. Rata-rata bobot molekul relatif lebih kurang  $3 \times 10^6$ .

**Karbon aktif P** Gunakan arang aktif P.

**Karbon dekolorisasi P** Gunakan arang aktif P.

**Karbon dioksida P** Gunakan Karbon Dioksida seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Karbon disulfida P** CS<sub>2</sub>; BM 76,13 [75-15-0]; murni pereaksi.

**Karbon tetraklorida P** CCl<sub>4</sub>; BM 153,82 [56-23-5]; murni pereaksi.

**Kasein P** [9000-71-9]

*Pemerian* Serbuk granul, putih atau sedikit kuning.

*Kelaratuan* Tidak larut dalam air dan dalam pelarut netral lain; mudah larut dalam amonia dan dalam pelarut alkali hidroksida; biasanya terbentuk larutan keruh.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 1,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi dengan memijarkan 2 g zat: bobot residu tidak lebih dari 20 mg.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 0,1% atau 1 mg. Uapkan dan keringkan filtrat dari uji kebasaaan pada suhu 105°.

*Kebasaan* Kocok 1 g zat dengan 20 ml air selama 10 menit, saring: filtrat tidak bereaksi alkalis terhadap kertas lakmus.

*Zat larut* Tidak lebih dari 0,1%. Uapkan dan keringkan filtrat dari uji kebasaaan pada suhu 105°.

*Lemak* Tidak lebih dari 0,5%. Larutkan 1 g zat dalam campuran 10 ml air dan 5 ml amonia etanol LP dan kocok dua kali, tiap kali dengan 20 ml heksan pelarut P. Uapkan heksan pada suhu rendah, keringkan pada suhu 80°.

*Kandungan nitrogen* <571> Metode I Kadar N antara 15,2% dan 16,0% dihitung terhadap zat anhidrat.

Jika diperlukan kasein bebas vitamin, gunakan kasein yang dibuat bebas dari vitamin larut lemak dengan ekstraksi terus menerus dengan etanol panas selama 48 jam disertai pengeringan dengan udara untuk menghilangkan pelarut.

**Katekol P** *o*-Dihidroksi benzene; C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>; BM 110,11 [120-80-9]; gunakan pereaksi dengan kandungan tidak kurang dari 99%.

*Pemerian* Hablur putih, berubah warna karena terpapar udara dan cahaya.

*Kelaratuan* Mudah larut dalam air, dalam etanol, dalam benzen, dalam eter, dalam kloroform dan dalam piridin: membentuk larutan jernih.

**Kertas saring, kuantitatif** Pada kertas raksa(II) bromida untuk uji arsen, gunakan kertas saring Swedish O atau yang setara permukaan, mutu dan abunya.

**Kieselgur P** Murni pereaksi, dimurnikan dengan asam.

**Klor P** Cl<sub>2</sub>; BM 70,9 [7782-50-5]. Gas kuning kehijauan.

**Klor LP** Klorin LP; Air klor Larutan jenuh klor P dalam air. Simpan dalam wadah kecil tidak tembus cahaya terisi penuh. Klor LP dapat rusak walaupun disimpan terlindung dari cahaya dan udara. Simpan di tempat sejuk dan gelap. Larutan sebaiknya dibuat segar.

**Kloralhidrat P** Gunakan kloralhidrat seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Kloralhidrat LP** Larutkan 50 g kloralhidrat P dalam campuran 15 ml air dan 10 ml gliserin P.

**Kloramin T P** Natrium-*p*-toluensulfonkloramida; C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>CINNaO<sub>2</sub>S.3H<sub>2</sub>O; BM 281,69 [7080-50-4]; murni pereaksi.

**Klorheksidin asetat P** Klorheksidin diasetat; C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>.2CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H; BM 625,6; murni pereaksi.

*Suhu lebur* <1021> lebih kurang 154°.

**Klorin LP** Gunakan *klor LP*.

**p-Kloroanilin P**  $C_6H_6ClN$ ; BM 127,57 [106-47-8]; mutu pereaksi yang sesuai.

**p-Kloroasetanilida P**  $C_8H_8ClNO$ ; BM 169,61.

*Pemerian* Kristal jarum atau kristal halus, putih atau kuning pucat.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dalam benzen, dalam kloroform dan dalam eter.

*Daya larut* 1 g zat dilarutkan dalam 30 ml *etanol P* membentuk larutan jernih.

*Jarak lebur* <1021> Antara 178° dan 181°.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,1%; lakukan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Klorobenzen P**  $C_6H_5Cl$ ; BM 112,56; [108-90-7]; murni pereaksi.

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna; bau khas.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air, larut dalam etanol; dalam benzen; dalam kloroform dan dalam eter.

**Klorobutanol P** Gunakan *Klorobutanol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**1-Klorobutan P** Gunakan *n-butyl klorida P*.

**p-Klorofenol P**  $C_6H_5ClO$ ; BM 128,6; [106-48-9]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur, tidak berwarna

*Titik lebur* <1021> Lebih kurang 42°.

**Kloroform P**  $CHCl_3$ ; BM 119,38; [67-66-3]; murni pereaksi.

**Kloroform bebas etanol P** Murni pereaksi yang tidak mengandung alkohol sebagai zat penstabil.

**Klorotrimetilsilan P**  $C_3H_9ClSi$ ; BM 108,64 [75-77-4].

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna sampai kuning muda, Berasap di udara lembab.

[Perhatian *Klorotrimetilsilan* bereaksi kuat dengan air, alkohol dan senyawa donor hidrogen lain.]

*Indeks bias* <1001> Antara 1,3850 dan 1,3890; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah kaca tertutup rapat.

**Kobalt(II) asetat P**  $Co(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$ ; BM 249,08; [71-48-7]; murni pereaksi.

**Kobalt(II) klorida P** *Kobalt klorida P*;  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ; BM 237,93; [7791-13-1]; murni pereaksi.

**Kobalt(II) klorida LP** Larutkan 2 g *kobalt(II) klorida P* dalam 1 ml *asam klorida P* dan air hingga 100 ml.

**Kobalt(II) nitrat P** *Kobalt nitrat*;  $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ; BM 291,03; [10026-22-9]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur kecil, merah tua.

**Kobalt(II) uranil asetat LP** Larutkan dengan menghangatkan 40 g *uranil asetat P* dalam campuran 30 g *asam asetat glasial P* dan air hingga 500 ml. Dengan cara yang sama, buat larutan yang mengandung 200 g *kobalt(II) asetat P* dalam campuran 30 g *asam asetat glasial P* dan air hingga 500 ml. Campur kedua larutan saat masih hangat, dan dinginkan hingga 20°. Pertahankan suhu pada 20° selama lebih kurang 2 jam untuk memisahkan garam yang berlebihan dari larutan, kemudian saring melalui penyaring kering.

**Kodein fosfat P** Gunakan *Kodein Fosfat* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Kolin klorida P**  $HOCH_2CH_2N(CH_3)_3Cl$ ; BM 139,62; [67-48-1]; Mengandung tidak kurang dari 99,5%  $C_5H_{14}ClNO$ .

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, putih; higroskopis.

*Kelarutan* Sangat mudah larut dalam air.

*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 0,1%.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, yang telah dikeringkan pada 105° selama 2 jam, masukkan ke dalam gelas piala, tambahkan 20 ml air dan 1 tetes larutan *aluminium klorida P* (1 dalam 10) dan campur. Tambahkan secara perlahan-lahan 20 ml larutan segar *natrium tetrafenilborat P* (1 dalam 50) yang telah disaring, diamkan campuran selama 30 menit, kadang-kadang digoyang. Saring melalui penyaring kaca masir porositas sedang dan cuci gelas piala dan endapan 4 kali setiap kali dengan 10 ml air. Timbang endapan yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam, dan kalikan hasil dengan 0,3298, untuk memperoleh kesetaraan bobot  $C_5H_{14}ClNO$ .

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup rapat.

**o-Kresol P**  $C_7H_8O$ ; BM 108,10; [95-48-7]; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur padat, tidak berwarna

*Titik beku* Tidak kurang dari 30,5°.

*Bobot jenis* Lebih kurang 1,05.

*Indeks bias* Antara 1,540 dan 1,550.

*Titik didih* Lebih kurang 190°.

Simpan terlindung dari cahaya, kelembaban dan oksigen. Destilasi sebelum digunakan.

**Kristal violet P** Gunakan *Kristal violet P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Kristal violet LP** Larutkan 100 mg *kristal violet P* dalam 10 ml *asam asetat glasial P*.

**Krom azurol S P** CI 43825;  $C_{22}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$ ; BM 605; [1667-99-8]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk, hitam kecokelatan.

**Kromium trioksida P**  $CrO_3$ ; BM 99,99; [1333-82-0]; murni pereaksi.

*Pemerian* Granul atau berbentuk jarum, merah tua kecokelatan, mudah meleleh.  
Simpan dalam wadah kedap udara.

**Kuinalizarin P** *1,2,5,8-Tetrahidroksiantrakuinon*;  $C_{14}H_8O_6$ ; BM 272,2; [81-61-8]; CI 58500; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk, cokelat kemerahan.

**Kuning tiazol P** *Kuning titan P*; CI "Direct yellow" 9; CI 19540;  $C_{20}H_{19}N_3Na_2O_6S_4$ ; BM 695,74; [1829-00-1].

*Pemerian* Serbuk, cokelat kekuningan.

**Kuning titan P** Gunakan *Kuning tiazol P*.

**Kuning titan LP** Larutan *kuning titan P* 0,05%.

*Kepekaan terhadap magnesium* Lakukan pengujian sebagai berikut: Tambahkan 0,1 ml zat pada campuran 10 ml air; 0,2 ml *Larutan baku magnesium (10 bpj Mg)* dan 1,0 ml *natrium hidroksida 1 N*. Warna merah muda dapat dilihat dengan membandingkan terhadap larutan zat yang dibuat dengan perlakuan sama tanpa *Larutan baku magnesium*.

**Lakmus P** Gunakan *Lakmus P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Lakmus LP** [1393-92-6]; Digesti 25 g serbuk *lakmus P* sebanyak tiga kali, tiap kali dengan 100 ml *etanol P* mendidih masing-masing selama 1 jam. Saring, cuci dengan *etanol P* dan buang filtrat *etanol*. Maserasi residu dengan lebih kurang 25 ml air dingin selama 4 jam, saring, dan buang filtrat. Digesti residu dengan 125 ml air mendidih selama 1 jam, dinginkan dan saring.

**Laktofenol P** Larutkan 20 g *fenol P* dalam campuran 20 g *asam laktat P*, 40 g *gliserol P* dan 20 ml air.

**Laktosa P**  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ ; BM 360,31; [64-42-3]; murni pereaksi.

**Lantanum klorida P**  $LaCl_3 \cdot (6-7)H_2O$ ; BM 245,26; [10025-84-0]; tersedia dalam bentuk hidrat dengan jumlah molekul air 6 dan 7; murni pereaksi.

**Lantanum nitrat P**  $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ ; BM 433,0; murni pereaksi.

**Larutan amonia encer P** Gunakan *Amonia LP*.

**Larutan baku arsen (10 bpj As)** Larutkan 330 mg *arsen trioksida P* dalam 5 ml *natrium hidroksida 2 N* dan encerkan dengan air hingga 250,0 ml. Segera sebelum digunakan, encerkan 10,0 ml larutan ini dengan air hingga 1000,0 ml.

**Larutan baku arsen (1 bpj As)** Segera sebelum digunakan encerkan 10,0 ml *Larutan baku arsen (10 bpj)* dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku besi (20 bpj Fe)** Larutkan sejumlah *besi(III) amonium sulfat P* setara dengan 0,863 g  $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$  dalam 25 ml *asam sulfat encer P* dan encerkan dengan air hingga 500,0 ml. Segera sebelum digunakan encerkan 1,0 ml larutan ini dengan air hingga 10,0 ml.

**Larutan baku besi (10 bpj Fe)** Larutkan sejumlah *besi(II) amonium sulfat P* setara dengan 7,022 g  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  dalam 25 ml *asam sulfat encer P* dan encerkan dengan air hingga 1000,0 ml. Segera sebelum digunakan encerkan 1,0 ml larutan ini dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku besi (2 bpj Fe)** Encerkan 10,0 ml *Larutan baku besi (20 bpj Fe)* dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku magnesium (10 bpj Mg)** Larutkan sejumlah *magnesium sulfat P* setara dengan 1,010 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  dalam 100 ml air. Segera sebelum digunakan encerkan 1,0 ml larutan ini dengan air hingga 10,0 ml.

**Larutan baku nitrat (100 bpj  $NO_3$ )** Larutkan sejumlah *kalium nitrat P* setara dengan 0,815 g  $KNO_3$  dalam 500 ml air. Segera sebelum digunakan encerkan 1,0 ml larutan ini dengan air hingga 10,0 ml.

**Larutan baku perak (5 bpj Ag)** Larutkan sejumlah *perak nitrat P* setara dengan 0,790 g  $AgNO_3$  dalam 1000 ml air. Segera sebelum digunakan encerkan 1,0 ml larutan ini dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku raksa (5 bpj Hg)** Encerkan 1,0 ml larutan *raksa(II) klorida P* 0,0675% dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku tembaga (10 bpj Cu)** Encerkan 1,0 ml larutan *tembaga(II) sulfat P* 0,393% dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku timbal (20 bpj Pb)** Encerkan 1,0 ml larutan dari 250 ml larutan yang mengandung 800 mg *timbal(II) nitrat P* dan 2 ml *asam nitrat P* dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku timbal (10 bpj Pb)** Encerkan 50,0 ml *Larutan baku timbal (20 bpj Pb)* dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan baku timbal (1 bpj Pb)** Encerkan 5,0 ml *Larutan baku timbal (20 bpj Pb)* dengan air hingga 100,0 ml.

**Larutan Fehling** Gunakan *kalium tembaga(II) tartrat LP*.

**Larutan natrium klorida isotonik** Gunakan *salin LP*.

**Larutan timah(II) klorida AsT** Pada *timah(II) klorida LP*, tambahkan *asam klorida P* volume sama, panaskan dan saring melalui kertas saring dengan kualitas yang baik. Larutan memenuhi uji berikut:

Pada 10 ml zat tambahkan 6 ml air dan 10 ml *asam klorida P*, destilasi dan kumpulkan destilat sebanyak 16 ml. Pada destilat tambahkan 50 ml air, 0,1 ml larutan zat, 5 ml *kaliun iodida 0,1 M* dan 5 g *zink aktif P*. Gunakan alat dan prosedur seperti tertera pada *Uji Batas Arsen <321>*: warna yang dihasilkan pada *kertas raksa(II) bromida P* tidak lebih intensif dibandingkan jika uji dilakukan dengan penambahan 1 ml *Larutan baku arsen (1 bpj As)*.

**Lembayung azo P** Gunakan *Lembayung azo P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Lembayung metil LP** Gunakan *kristal violet P*.

**L-Lisin P** *Asam-2,6-diaminoheksanoat*;  $C_6H_{14}N_2O_2$ ; BM 146,19; [56-87-1].

*Pemerian* Hablur jarum atau lempeng heksagonal.

*Kelarutan* Larut dalam air; sangat sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam eter.

*Rotasi jenis <1081>* Antara  $+25,5^\circ$  dan  $+26,0^\circ$ ; lakukan penetapan menggunakan larutan zat 20 mg per ml dalam *asam klorida P* (1 dalam 2).

*Kandungan nitrogen <581> Metode I* Antara 18,88% dan 19,44% N, setara terhadap tidak kurang dari 98,5%  $C_6H_{14}N_2O_2$ ; lakukan penetapan menggunakan zat yang telah dikeringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

**Litium P Li**; BA 6,94; murni pereaksi.

*Pemerian* Logam lunak. Jika baru dipotong, permukaannya berwarna abu-abu perak. Bereaksi kuat dengan air. Sebelum digunakan, minyak parafin yang dioleskan pada logam litium harus dicuci dengan *toluen P*.

**Litium hidroksida P**  $LiOH \cdot H_2O$ ; BM 41,96; [1310-65-2]; murni pereaksi.

**Litium klorida P**  $LiCl$ ; BM 42,39; [7447-41-8]; murni pereaksi.

**Litium metoksida benzen 0,1 N** Gunakan *Litium metoksida benzen 0,1 N* seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.

**Litium metoksida klorobenzen 0,1 N** Gunakan *Litium metoksida klorobenzen 0,1 N* seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.

**Litium sulfat P**  $Li_2SO_4 \cdot H_2O$ ; BM 127,96; [10377-48-7]; murni pereaksi.

**Locke-ringer LP** *Larutan Locke ringer*.

<i>Natrium klorida P</i> .....	9,0	g
<i>Kaliun klorida P</i> .....	0,42	g
<i>Kalsium klorida P</i> .....	0,24	g

<i>Magnesium klorida P</i> .....	0,2	g
<i>Natrium bikarbonat P</i> .....	0,5	g
<i>Dekstroza P</i> .....	0,5	g
Air yang baru didestilasi dari labu kaca-keras, secukupnya hingga ....	1000	ml

Buat segar setiap hari. Kandungan zat (kecuali dekstroza dan natrium bikarbonat) dapat dibuat sebagai larutan persediaan dan diencerkan jika perlu.

**Magenta LP** Larutkan 0,1 g *magenta basa P* dalam 3 ml *metanol P*, encerkan dengan air hingga 100 ml. Aduk dan saring.

**Magenta basa P** *Ungu basa 14; Fukhsin basa P; Rosanilin hidroklorida campuran*, Campuran  $C_{20}H_{19}N_3 \cdot HCl$ , (BM 337,9; CI 42510) dan *pararosanilin hidroklorida*,  $C_{19}H_{17}N_3 \cdot HCl$ , (BM 323,8; CI 42500).

*Pemerian* Serbuk merah gelap atau hablur hijau dengan kilat logam yang menunjukkan kemurniannya; bila digunakan dalam pembuatan larutan magenta dekolorisasi, larutan hampir tidak berwarna.

**Magenta dekolorisasi LP** Larutkan 100 mg *magenta basa P* dalam 60 ml air, tambahkan 1 g *natrium sulfat anhidrat P* yang dilarutkan dalam 10 ml air. Perlahan-lahan tambahkan 2 ml *asam klorida P*, kocok secara terus menerus, encerkan dengan air hingga 100 ml. Diamkan dalam keadaan terlindung cahaya selama tidak kurang dari 12 jam. Kocok dengan *arang aktif P* secukupnya (200 - 300 mg) untuk menghilangkan warna dan segera saring. Jika larutan menjadi keruh, saring sebelum digunakan. Jika pada penyimpanan larutan menjadi ungu, hilangkan warna kembali dengan penambahan *arang aktif P*.

*Kepekaan terhadap formaldehida* Tambahkan 1,0 ml air dan 0,1 ml *etanol bebas aldehida P*, ke dalam 1,0 ml larutan. Tambahkan 0,2 ml larutan yang mengandung *formaldehida P* 0,01%; terjadi warna merah muda dalam waktu 5 menit.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah terlindung dari cahaya.

**Magnesia campur LP** Larutkan 5,5 g *magnesium klorida P* dan 7 g *amonium klorida P* dalam 65 ml air, tambahkan 35 ml *amonia LP*, simpan campuran selama beberapa hari dalam wadah tertutup baik dan saring. Jika larutan tidak jernih, saring sebelum digunakan.

**Magnesium klorida P**  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; BM 203,30; [7786-30-3]; murni pereaksi.

**Magnesium nitrat P**  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ; BM 256,41; [10377-60-3]; murni pereaksi.

**Magnesium oksida P**  $MgO$ ; BM 40,30; [1309-48-4]; murni pereaksi.

**Magnesium perklorat anhidrat P**  $Mg(ClO_4)_2$ ; BM 223,21; [10034-81-8]; murni pereaksi.

**Magnesium sulfat P**  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; BM 246,48; [10034-99-8]; murni pereaksi.

**Magnesium sulfat LP** Larutkan 12 g hablur *magnesium sulfat P*, yang tidak mengembang dalam air hingga 100 ml.

**Mangan dioksida P** Gunakan *Mangan(IV) oksida P*.

**Mangan(IV) oksida P** *Mangan dioksida P*;  $\text{MnO}_2$ ; BM 86,94; [1313-13-9]; murni pereaksi.

**Mangan sulfat P** *Mangan sulfat monohidrat*;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; BM 169,01; murni pereaksi.

**D-Manitol P** Gunakan *Manitol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Mayer, pereaksi** Gunakan *Raksa(II) kalium iodida LP*.

**Merah fenol P** Gunakan *Merah fenol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Merah fenol LP** *Fenosulfonftalein LP*; larutkan 100 mg *Fenosulfonftalein P* dalam 100 ml *etanol P*, dan saring jika perlu.

**Merah kongo P**  $\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_2$ ; BM 696,67; [573-58-0].

*Pemerian* Serbuk merah tua atau cokelat kemerahan; terurai oleh paparan uap asam.

*Kelarutan* Sukar larut dalam etanol.

*pH* <1071> Antara 8 dan 9,5; lakukan penetapan dengan melarutkan 1 g zat dalam lebih kurang 30 ml air.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 3,0%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 4 jam.

*Sisa pijaran* <301> Bobot natrium sulfat antara 20,0% dan 24,0% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, keringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 4 jam, masukkan ke dalam cawan porselen. Pijarkan hingga menjadi abu, dinginkan, tambahkan 2 ml *asam sulfat P* dan pijarkan perlahan hingga residu berwarna putih. Dinginkan, tambahkan 0,5 ml *asam sulfat P* dan 1 ml *asam nitrat P*, uapkan, dan pijarkan kembali hingga bobot tetap.

*Kepekaan* Pada 50 ml *air bebas karbondioksida P* tambahkan 0,1 ml larutan zat (1 dalam 1000): warna merah menjadi ungu dengan penambahan 0,05 ml *asam klorida 0,10 N* dan warna kembali semula dengan penambahan 0,05 ml *natrium hidroksida 0,10 N*.

**Merah kongo LP** Larutkan 500 mg *merah kongo P* dalam campuran 10 ml *etanol P* dan 90 ml air.

**Merah kongo LP (A)** Larutkan 100 mg *merah kongo P* dalam 20 ml campuran *etanol P* dan air, encerkan dengan air hingga 100 ml. Lakukan uji kepekaan sebagai berikut: Campur 0,2 ml larutan, 100 ml *air bebas karbondioksida P* dan 0,3 ml *asam klorida 0,1N LV*: larutan berwarna biru. Untuk mengubah warna larutan menjadi merah muda, diperlukan tidak lebih dari 0,3 ml *natrium hidroksida 0,1 N LV*.

**Merah kresol P** Gunakan *Merah kresol P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Merah kresol LP** Triturat 100 mg *merah kresol P* dalam mortar dengan 26,2 ml *natrium hidroksida 0,01 N* sampai larutan sempurna, kemudian encerkan larutan dengan air hingga 250 ml.

**Merah kuinaldin P** Gunakan *Merah kuinaldin P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Merah kuinaldin LP** Larutkan 100 mg *merah kuinaldin P* dalam 100 ml *etanol P*.

**Merah metil P** (*Asam-2-[4-Dimetilaminofenilazo] benzoat*; CI *Acid Red 2*);  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ , asam; BM 269,30; [493-52-7];  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2\text{Na}$ , garam natrium; BM 291,28 [845-10-3]; murni pereaksi. Bentuk asam disarankan untuk titrasi bebas air, terutama saat menggunakan pelarut aprotik. Garam natrium disarankan untuk titrasi dengan media air dan juga titrasi bebas air dengan medium pelarut amfiprotik. Garam klorida disarankan untuk titrasi dengan media air dan pelarut amfiprotik.

**Merah metil LP** Larutkan 100 mg *merah metil P* dalam 100 ml *etanol P*, saring jika perlu.

**Merah metil-biru metilen LP** Tambahkan 10 ml *merah metil LP* ke dalam 10 ml *biru metilen LP*, dan campur.

**Merah netral P** Gunakan *Merah netral P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Merah ruthenium P** *Ruthenium Oksiklorida, Amoniak P*;  $\text{Ru}_2(\text{OH})_2\text{Cl}_4 \cdot 7\text{NH}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; BM 551,23; [11103-72-3].

*Pemerian* Serbuk, merah kecokelatan sampai ungu gelap.

*Kelarutan* Larut dalam air.

**Merah ruthenium LP** Larutkan 10 g *timbangan(II) asetat P* dalam air, encerkan hingga 100 ml, dan tambahkan 80 mg *merah ruthenium P*. Larutan berwarna merah anggur. [Catatan Jika perlu, tambahkan lagi *merah ruthenium P* hingga diperoleh warna merah anggur].

**Merkuri bromida P**  $\text{HgBr}_2$ ; BM 360,40; [7789-47-1]; murni pereaksi.

**Merkuri iodida P** Gunakan *Raksa(II) iodida P*

**Merkuri(II) tiosianat P**  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ ; BM 316,76; [592-85-8].

*Pemerian* Serbuk hablur putih.

*Kelarutan* Sangat sukar dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam eter; larut dalam larutan natrium klorida.

**Metalftalein P** Gunakan *Metalftalein P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Metanol P** *Metil alkohol P*;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; BM 32,04; [67-56-1]; murni pereaksi.

**Metanol anhidrat P** Gunakan *metanol P*.

**Metenamin P** Gunakan *Metenamin* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Metil alkohol P** Gunakan *metanol P*.

**p-Metilaminofenol sulfat P**  
( $p\text{-CH}_3\text{NHC}_6\text{H}_4\text{OH}$ ) $_2\text{H}_2\text{SO}_4$ ; BM 344,38; [55-55-0]; murni pereaksi.

**3-Metilbutan-1-ol P** *Isoamil alkohol P*;  
( $\text{CH}_3$ ) $_2\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ ; BM 88,2; murni pereaksi.

*Suhu didih* Lebih kurang 130°.  
*Indeks bias* <1001> Lebih kurang 1,406; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Bobot per ml* <991> Lebih kurang 810 mg.

**Metilen klorida P** *Diklorometan P*;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; BM 84,93; [75-09-2]; murni pereaksi.

**N,N'-Metilenbisakrilamida P** ( $\text{CH}_2=\text{CHCONH}$ ) $_2\text{CH}_2$ ;  
BM 154,2; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk atau serbuk putih.

**Metil etil keton P**  $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$ ; BM 72,11; [78-93-3]; murni pereaksi.

**Metil hijau-raksa iodida, kertas P** Gunakan *Kertas metil hijau-raksa iodida P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Metil iodida P** *Iodometan P*;  $\text{CH}_3\text{I}$ ; BM 141,94; [74-88-4]. Mengandung tidak kurang 99%  $\text{CH}_3\text{I}$ .

*Pemerian* Cairan transparan tidak berwarna, berat.  
*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol, dengan eter, dan dengan heksana. Jika terpapar cahaya warna berubah menjadi cokelat karena terbentuk iodum.

**Metil isobutil keton P** Gunakan *4-Metil-2-pentanon P*.

**Metil kloroform P** *1,1,1-Trikloroetan P*;  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ; BM 133,40; [71-55-6]; murni pereaksi.

**Metilparaben P** Gunakan *Metilparaben* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**4-Metil-2-pentanon P** *Metil isobutil keton P*;  
( $\text{CH}_3$ ) $_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$ ; BM 100,16; [108-10-1]; murni pereaksi.

**2-Metil-2-propil-1,3-propandirol P**  $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_2$ ; BM 132,20; [78-26-2].

*Pemerian* Hablur, putih; melebur pada suhu lebih kurang 58°.

**Metil sianida P** Gunakan *asetonitril P*.

**Metil sulfoksida P** [67-68-5]. Gunakan *dimetil sulfoksida P*.

**4-Metoksibenzaldehida P** Gunakan *Anisaldehida P*.

**Metoksi etanol P** *Etilen glikol monometil eter*; *2-Metoksi etanol P*;  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ; BM 76,09; [109-86-4]; murni pereaksi.

**2-Metoksi etanol P** Gunakan *Metoksi etanol P*.

**Millon LP** Ke dalam 2 ml *raksa P* di dalam labu Erlenmeyer tambahkan 20 ml *asam nitrat P*. Kocok labu di dalam lemari asam untuk memecah raksa menjadi butiran kecil. Setelah lebih kurang 10 menit tambahkan 35 ml air, dan bila terbentuk endapan atau hablur, tambahkan secukupnya asam nitrat encer (1 dalam 5, dibuat dari *asam nitrat P* yang telah dipisahkan dari oksidanya dengan melewati aliran udara, hingga tak berwarna) untuk melarutkan padatan yang terpisah. Tambahkan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) tetes demi tetes, sambil terus diaduk, hingga endapan yang terbentuk seperti dadih sesudah penambahan setiap tetes tidak larut lagi, tetapi terdispersi membentuk suspensi. Tambahkan lagi 5 ml asam nitrat encer, dan campur. Larutan dibuat segar.

**Minyak mineral P** Gunakan *Minyak Mineral* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Minyak mineral ringan P** adalah campuran hidrokarbon cair yang diperoleh dari minyak murni, dapat mengandung zat penstabil yang sesuai.

*Bobot jenis* <981> Antara 0,818 dan 0,880.

*Kekentalan* <1051> Mempunyai kekentalan kinematik yang tidak lebih dari 33,5 sentistoke pada suhu 40°.

*Keasaman-kebasaan*, *Zat mudah terarangkan*, *Batas senyawa polinuklir* dan *Parafin padat* Memenuhi syarat seperti tertera pada *Keasaman-kebasaan*, *Zat mudah terarangkan*, *Batas senyawa polinuklir* dan *Parafin padat* dalam *Minyak Mineral*.

**Minyak nabati terhidrogenasi P** Gunakan *Minyak nabati terhidrogenasi* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Minyak zaitun P** Gunakan *Minyak Zaitun* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Monoetanolamina P** *2-Aminoetanol*;  $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}$ ; BM 61,08; murni pereaksi.

**Morfin anhidrat P** Tambahkan *ammonia LP* sedikit berlebih pada larutan *morfin sulfat P* dalam air, cuci endapan morfin dengan air hingga bebas dari garam amonium, keringkan pada suhu 110°.



**Morfin sulfat P** Gunakan *Morfin Sulfat* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Morfolin P** *Tetrahidro-1,4-oksazina*;  $C_4H_9NO$ ; BM 87,12; [110-91-8]; murni pereaksi.

**Naftalen P**  $C_{10}H_8$ ; BM 128,17; [91-20-3]. Mengandung tidak kurang 98%  $C_{10}H_8$ .

*Pemerian* Lempeng monoklinik prisma atau serbuk putih.

**1,3-Naftalendiol P** *Naftoresorsinol P*;  $C_{10}H_6(OH)_2$ ; BM 160,17; [132-86-5].

*Pemerian* Hablur atau serbuk, putih keabu-abuan hingga cokelat.

*Kelarutan* Mudah larut dalam metanol; agak sukar larut dalam air, dalam etanol, dan dalam eter.

*Kelarutan dalam metanol* Larutkan 500 mg zat dalam 50 ml *metanol P*; larut sempurna dan jernih.

*Jarak lebur* <1021> Antara 122° dan 127°.

**2,7-Naftalendiol P** *2,7-Dihidroksinaftalen*;  $C_{10}H_8O_2$ ; BM 160,17; [582-17-2].

*Pemerian* Hablur padat atau serbuk, hampir putih hingga kuning.

*Kelarutan* Larut dalam aseton.

*Jarak lebur* <1021> Antara 187° dan 191°.

**1-Naftilamin hidroklorida P**  $C_{10}H_7NH_2.HCl$ ; BM 179,65; [552-46-5].

*Pemerian* Serbuk hablur, putih, berubah jadi kebiruan jika terpapar cahaya dan udara.

*Kelarutan* Larut dalam air, dalam etanol dan dalam eter.

Larutan (1 dalam 100), asamkan dengan sedikit *asam asetat P*, tambahkan 5 tetes *besi(II) klorida LP* menjadi berwarna lembayung. Tambahkan *asam asetat encer P* (1 dalam 40), menjadi tidak berwarna atau tidak lebih dari agak opalesen.

*Sisa pemijaran* Dapat diabaikan; lakukan pemijaran seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 200 mg zat dengan beberapa tetes *asam sulfat P*.

**N-(1-Naftil)etilendiamin dihidroklorida P**  
 $C_{10}H_7NH(CH_2)_2NH_2.2HCl$ ; BM 259,17; [1465-25-4];  
murni pereaksi.

**N-(1-Naftil)etilendiamin dihidroklorida LP** Larutkan 100 mg *N-(1-Naftil)etilendiamin dihidroklorida P* dalam 100 ml campuran 7 bagian *aseton P* dan 3 bagian air.

**$\beta$ -Naftokuinon 4-natrium sulfonat P**  $C_{10}H_5NaO_5S$ ; BM 260,20.

*Pemerian* Serbuk hablur atau hablur, kuning hingga jingga kuning.

*Kelarutan* Larut dalam lebih kurang 10 bagian air; tidak larut dalam etanol.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 2%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada suhu lebih kurang 50°.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 265 mg sampai 280 mg (antara 26,5% dan 28%); lakukan pemijaran seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 1 g zat kering dengan 3 ml *asam sulfat P*.

**1-Naftol P** *Alfanaftol P*;  $C_{10}H_7OH$ ; BM 144,17; [90-15-3].

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, tidak berwarna atau agak merah muda.

**1-Naftol LP** Gunakan *Pereaksi 1-Naftol*.

**1-Naftol encer LP** Larutkan 100 mg *1-naftol P* dalam 3 ml *natrium hidroksida P 15%* dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Naftol dikalium disulfonat P** *2-Naftol-6,8-dikalium disulfonat*;  $C_{10}H_6K_2O_7S_2$ ; BM 380,48; [842-18-2]; murni pereaksi.

**2-Naftol P** *Betanaftol P*;  $C_{10}H_7OH$ ; BM 144,17; [135-19-3].

*Pemerian* Serpihan atau serbuk hablur, putih yang berubah jika terpapar cahaya.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air; larut dalam etanol, dalam eter, dalam kloroform dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Kelarutan dalam etanol* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml *etanol P*; larut sempurna dan tidak berwarna.

*Jarak lebur* <1021> Antara 121° dan 123°

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,05%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Keasaman* Larutkan 1 g dalam 50 ml air sambil sekali-sekali dikocok selama 15 menit dan saring; filtrat netral terhadap *lakmus P*.

*1-Naftol* Didihkan 100 mg zat dengan 10 ml air hingga larut, dinginkan dan saring. Tambahkan ke dalam filtrat, 0,3 ml *natrium hidroksida 1 N* dan 0,3 ml *iodum 0,1 N*; tidak terjadi warna lembayung.

*Zat tak larut dalam amonium hidroksida* (naftalena dan sebagainya) Kocok 500 mg zat dengan 30 ml *amoniam LP*; 2-naftol larut sempurna dan warna larutan tidak lebih tua dari kuning pucat.

**2-Naftol LP** *Betanaftol LP* Larutkan 1 g *2-naftol P* dalam 100 ml larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 100).

**2-Naftol LP (A)** Larutkan 5 g *2-naftol P* yang direkristalisasi segar, dalam 40 ml *natrium hidroksida 2 N* dan tambahkan air secukupnya hingga 100 ml. *Larutan 2-naftol* harus dibuat segar.

**1-Naftolbenzein P** *Fenil bis(4-hidroksi naftil)-metanol*;  $C_{27}H_{20}O_3$ ; BM 392,5. Bila digunakan untuk titrasi media bukan air, warna berubah dari biru atau biru kehijauan (basa) menjadi jingga (netral) kemudian hijau tua (asam).

**1-Naftolbenzein LP** Larutan *1-Naftolbenzein P* 0,2% dalam *asam asetat glasial P*. Memenuhi uji kepekaan sebagai berikut: Tambahkan 0,25 ml larutan ke dalam

50 ml asam asetat glasial P. Tidak lebih dari 0,05 ml asam perklorat 0,1 N LV yang diperlukan untuk merubah warna larutan dari kuning kecokelatan menjadi hijau.

**p-Naftolbenzein P** C<sub>27</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>; BM 374,43; [145-50-6]; murni pereaksi.

Pemerian Serbuk merah cokelat.

**p-Naftolbenzein LP** Larutkan 250 mg p-naftolbenzein P dalam 100 ml asam asetat glasial P.

**Naftoresorsinol P** 1,3-Dihidroresorsinol; C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>; BM 160,17; [132-86-5]; murni pereaksi.

**Natrium P** Na; BA 22,98977; [7440-23-5]; murni pereaksi.

**Natrium amilum glikolat P** Murni pereaksi. Memenuhi uji berikut:

*Kepekaan terhadap iodum* Larutkan 10 mg zat dalam 7 ml air dan tambahkan 0,2 ml iodum 0,005 M LV; terjadi warna biru terang.

**Natrium amonium fosfat P** Garam mikrokosmik; NaNH<sub>4</sub>HPO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O; BM 209,07.

Pemerian Hablur, tidak berwarna atau granul putih; merekah di udara dan melepaskan amonia.

*Kelarutan* Mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

*Zat larut dan endapan amonium hidroksida* Tidak lebih dari 0,01%. Larutkan 10 g zat dalam 100 ml air dan tambahkan 10 ml amonia LP dan panaskan di atas tangas uap selama 1 jam. Jika terbentuk endapan, saring, cuci dengan air dan pijarkan: bobot endapan tidak lebih dari 1 mg.

*Klorida* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi menggunakan 1 g zat.

*Logam berat <371>* Tidak lebih dari 10 bpj. Larutkan 3 g zat dalam 25 ml air, tambahkan 15 ml asam sulfat 1 N, kemudian tambahkan 10 ml hidrogen sulfida LP: dalam 1 menit terbentuk warna cokelat yang tidak lebih gelap dari perbandingan yang mengandung 3 ml Larutan baku timbal dan 0,5 ml asam sulfat 1 N.

*Nitrat* Tidak lebih dari 50 bpj. Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air, tambahkan 0,1 ml indigo karmin LP, kemudian tambahkan dengan pengadukan 10 ml asam sulfat P; terjadi warna biru tetap selama 10 menit.

*Sulfat* Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi Metode II, dengan melarutkan 10 g zat dalam 100 ml air, dan tambahkan 5 ml asam klorida P, dan saring jika perlu.

**Natrium asetat P** NaC<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O; BM 136,08; [6131-90-4]; murni pereaksi.

**Natrium asetat anhidrat P** NaC<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>; BM 82,03; [127-09-3]; murni pereaksi.

**Natrium asetat LP** Larutkan 13,6 g natrium asetat P dalam air hingga 100 ml.

**Natrium azida P** NaN<sub>3</sub>; BM 65,01; [26628-22-8]; murni pereaksi.

Pemerian Serbuk putih.

*Penetapan kadar [Peringatan Natrium azida bersifat toksik. Asam konjugat HN<sub>3</sub> lebih toksik dari hidrogen sianida dan mudah terbebas dari larutan netral dalam air. Kontak NaH<sub>3</sub> atau asam hidrazoat (HN<sub>3</sub>) dengan logam tertentu dapat menghasilkan garam yang bersifat meledak. Lakukan dalam ruang dengan lemari asam, dan tangani zat dengan hati-hati.]* Tidak kurang dari 98,5%. Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, larutkan dalam 50 ml air, tambahkan 3 tetes fenolftalein LP. Jika perlu, atur pH hingga 7,0 dan tambahkan 35,0 ml asam perklorat 0,1 N. Pipet sambil diaduk 2,5 ml natrium nitrit 1,0 M ke dalam larutan, dan aduk selama 15 detik. Titrasi cepat dengan natrium hidroksida 0,1 N hingga titik akhir. Titik akhir harus dicapai kurang dari 4 menit setelah penambahan asam perklorat karena HN<sub>3</sub> mudah menguap. Hitung persentase azida dengan rumus:

$$\frac{[(N_p)(V_p) - (N_s)(V_s)](65,01)(100)}{2C}$$

N<sub>p</sub> dan N<sub>s</sub> berturut-turut adalah normalitas larutan asam perklorat dan natrium hidroksida; V<sub>p</sub> dan V<sub>s</sub> berturut-turut adalah volume dalam ml asam perklorat dan natrium hidroksida yang digunakan; 65,01 adalah bobot molekul natrium azida; C adalah bobot dalam mg natrium azida.

**Natrium bifenil P** C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>Na; BM 176,19. Tersedia sebagai larutan dalam 2-etoksietil eter atau 1,2-dimetoksietan (dietilenglikol dieter).

*Aktivitas* Tidak kurang dari 10%. Masukkan 20 ml toluen P kering ke dalam labu titrasi dilengkapi dengan batang pengaduk magnetik dan sumbat berlubang untuk menyisipkan ujung buret. Tambahkan secara kuantitatif natrium bifenil P secukupnya hingga terjadi warna biru dalam campuran, dan titrasi dengan amil alkohol P dari buret, hingga warna biru hilang. (Abaikan jumlah natrium bifenil dan amil alkohol yang digunakan dalam penetralan ini). Timbang saksama buret bobot yang berisi amil alkohol P. Pindahkan isi wadah yang berisi campuran larutan uji ke dalam labu titrasi, dan titrasi cepat dengan amil alkohol P hingga warna biru hilang. Catat skala yang digunakan untuk menetapkan bobot amil alkohol P, dan hitung aktivitas, dalam mEq tiap wadah, dengan rumus:

$$11,25W$$

W adalah bobot amil alkohol P yang digunakan.

*Kandungan iodum* Tambahkan 10 ml zat ke dalam 5 ml toluen P dalam corong pisah 125 ml yang dilengkapi dengan kran plastik inert dan kocok kuat selama 2 menit. Ekstraksi hati-hati sebanyak tiga kali,

tiap kali menggunakan 10 ml *asam fosfat P* (1 dalam 3), kumpulkan fase bawah dalam labu iodum 125 ml. Tambahkan *natrium hipoklorit LP*, tetes demi tetes, ke dalam campuran ekstrak hingga larutan berubah menjadi cokelat, kemudian tambahkan berlebih 0,5 ml. Kocok sesekali selama 3 menit, tambahkan 5 ml larutan segar *fenol P* jenuh, campur, dan biarkan tepat 1 menit. Tambahkan 1 g *kalium iodida P*, kocok selama 30 detik, tambahkan 3 ml *kanji LP*, dan titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*: diperlukan tidak lebih dari 0,1 ml *natrium tiosulfat 0,1 N LV*.

**Natrium bikarbonat P**  $\text{NaHCO}_3$ ; BM 84,01; [144-55-8]; murni pereaksi.

**Natrium bisulfit P** [7631-90-5]; murni pereaksi.

**Natrium bitartrat P**  $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_{16}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ; BM 190,08; [526-94-3]. Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_{16}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Larut dalam air dingin.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, larutkan dalam 30 ml air, tambahkan *fenoltalein LP*, dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV*.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,1 N*  
setara dengan 19,01 mg  $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_{16}\cdot\text{H}_2\text{O}$

*Zat tak larut* Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 10 g zat.

*Klorida* Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 1 g zat.

*Logam berat* Tidak lebih dari 10 bpj; lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 4 g zat dalam 25 ml air, tambahkan 2 tetes *fenoltalein LP*, dan kemudian tambahkan *amoniasia LP* tetes demi tetes, hingga larutan berwarna agak merah muda. Tambahkan 4 ml *asam klorida 1 N*, encerkan dengan air hingga 40 ml, dan tambahkan 10 ml *hidrogen sulfida LP*: terbentuk warna cokelat yang tidak lebih gelap dari pembanding yang mengandung 0,04 mg Pb.

*Sulfat* Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi Metode I*, menggunakan 1 g zat.

**Natrium bitartrat LP** Larutkan 1 g *natrium bitartrat P* dalam air hingga 10 ml. Larutan dibuat segar.

**Natrium borat P** *Boraks*; *Natrium tetraborat P*;  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ; BM 381,37; [1330-43-4]; murni pereaksi.

**Natrium bromida P**  $\text{NaBr}$ ; BM 102,89; [7647-15-6]; murni pereaksi.

**Natrium desoksikolat P** Gunakan *garam empedu P*.

**Natrium Dietilditiokarbamat P**  
 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCS}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; BM 225,31; [20624-25-3]; murni pereaksi.

**Natrium dihidrogen fosfat P** Gunakan *natrium fosfat monobasa dihidrat P*.

**Natrium ditionit P** Gunakan *natrium hidrosulfit P*.

**Natrium 2,6-diklorofenol-indofenol P**  
 $\text{O}:\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2:\text{NC}_6\text{H}_4\text{ONa}$  dengan lebih kurang  $2\text{H}_2\text{O}$ ; BM 290,08 (anhidrat); [620-45-1]; murni pereaksi.

**Natrium dodesil sulfat P**  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$ ; BM 288,38; [151-21-3]. Gunakan *natrium lauril sulfat P*.  
*Pemerian* serbuk hablur kuning muda.

**Natrium fluorida P**  $\text{NaF}$ ; BM 41,99; [7681-49-4]; murni pereaksi.

**Natrium fosfat dibasa P** *Dinatrium fosfat P*; *Dinatrium hidrogen fosfat P*; *Natrium fosfat dibasa heptahidrat P*;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; BM 268,07; [7782-85-6]; murni pereaksi.

**Natrium fosfat dibasa LP** Larutkan 12 g hablur jernih *natrium fosfat dibasa P* dalam air hingga 100 ml.

**Natrium fosfat dibasa anhidrat P** *Dinatrium hidrogen fosfat anhidrat P* (untuk larutan dapar);  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; BM 141,96; [7558-79-4]; murni pereaksi.

**Natrium fosfat dibasa dodekahidrat P** *Dinatrium hidrogen fosfat dodekahidrat P*;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ; BM 358,14; [10039-32-4]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ .

**Natrium fosfat monobasa P** *Natrium bifosfat P*; *Natrium dihidrogen fosfat P*; *Asam natrium fosfat P*; *Mononatrium ortofosfat P*;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ ; BM 137,99; [10049-21-5]; murni pereaksi.

**Natrium fosfat monobasa dihidrat P** *Natrium dihidrogen fosfat dihidrat P*;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; BM 156,01; [13472-35-0]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

**Natrium glikokolat P**  $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{NNaO}_6$ ; BM 487,60; [863-57-0].

*Pemerian* Serbuk, putih sampai cokelat; higroskopik.

*Kelarutan* Mudah larut dalam air dan dalam etanol.

*Rotasi jenis* <1081> Antara +28° dan +31°, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada suhu 100° selama 2 jam; lakukan penetapan pada suhu 20° menggunakan larutan yang mengandung 10 mg per ml.

*Nitrogen* <571> *Metode I* Antara 2,6% dan 3,2% N, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Natrium 1-heksansulfonat P** *Garam natrium asam 1-heksansulfonat P*;  $C_6H_{13}NaO_3S$ ; BM 188,22; [2832-45-3]; murni pereaksi.

**Natrium 1-heptansulfonat P** *Garam natrium asam 1-heptansulfonat P*;  $C_7H_{15}NaO_3S$ ; BM 202,25; [22767-50-6]; murni pereaksi.

**Natrium hidroksida P** NaOH; BM 40,00; [1310-73-2]; murni pereaksi.

**Natrium hidroksida LP** Larutkan 4,0 g *natrium hidroksida P* dalam air hingga 100 ml.

**Natrium hidrosulfid P** *Natrium ditionit P*;  $Na_2S_2O_4$ ; BM 174,10; [7775-38-1]. Mengandung tidak kurang dari 88%  $Na_2S_2O_4$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih atau putih keabuan. Secara bertahap akan teroksidasi di udara, lebih cepat jika di dalam larutan, menjadi bisulfid, larutan yang diperoleh bereaksi asam. Dipengaruhi oleh cahaya.

*Kelarutan* Larut dalam air; sukar larut dalam etanol.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, larutkan dalam campuran 10 ml *formaldehida LP* dan 10 ml air dalam labu tutup asah kecil, dan biarkan selama 30 menit dengan sering dikocok. Pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 250-ml, tambahkan 150 ml air dan 3 tetes *jingga metil LP*, kemudian tambahkan tetes demi tetes *asam sulfat 1 N* hingga bereaksi sedikit asam. Encerkan dengan air hingga 250 ml. Pada 50,0 ml larutan tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* dan tepatkan dengan penambahan *natrium hidroksida 0,1 N* hingga memberikan warna agak merah muda, kemudian titrasi dengan *iodum 0,1 N LV* menggunakan 3 ml *kanji LP* sebagai indikator. Hilangkan warna biru larutan dengan 1 tetes *natrium tiosulfat 0,1 N* dan titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV* hingga warna merah muda.

Tiap ml *natrium hidroksida 0,1 N*  
setara dengan 3,482 mg  $Na_2S_2O_4$

*Sulfida* Tambahkan larutan *natrium hidroksida P* (1 dalam 10) pada *timbangan II* *asetat LP* hingga endapan larut. Tambahkan 5 tetes larutan ke dalam larutan 1 g zat dalam 10 ml air: tidak segera berwarna gelap.

*Logam berat* Larutkan 1 g zat dalam 10 ml air, tambahkan 10 ml *asam klorida P*, dan uapkan di atas tangas uap sampai kering. Larutkan residu dalam 20 ml air dan 0,5 ml *asam klorida encer P*, saring, dan tambahkan pada filtrat 10 ml *asam sulfida LP*: tidak terjadi warna gelap. Tambahkan *amonium LP* hingga larutan alkali: dapat terjadi warna sedikit kehijauan, tetapi tidak terbentuk endapan gelap atau putih.

*Kesesuaian untuk penetapan kadar Riboflavin* Pada masing-masing dari 2 tabung atau lebih tambahkan 10 ml air dan 1,0 ml larutan baku riboflavin yang mengandung 20 µg per ml, campurkan. Pada tiap tabung tambahkan 1,0 ml *asam asetat glasial P*, campur, tambahkan dengan pencampuran 0,5 ml larutan *kalium*

*permanganat P* (1 dalam 25), dan diamkan selama 2 menit. Kemudian pada tiap tabung tambahkan, dengan pencampuran 0,5 ml *hidrogen peroksida LP*: warna permanganat rusak dalam 10 detik. Kocok tiap tabung kuat-kuat hingga kelebihan oksigen dibuang. Jika gelembung gas tertinggal pada dinding tabung setelah buih berhenti, hilangkan gelembung dengan merebahkan tabung sehingga larutan mengalir secara perlahan dari ujung ke ujung. Ukur fluoresensi larutan menggunakan fluorometer. Kemudian tambahkan dengan pencampuran 8,0 mg zat: riboflavin tereduksi sempurna tidak lebih dari 5 detik.

**Natrium hipobromit LP** Pada larutan 20 g *natrium hidroksida P* dalam 75 ml air tambahkan 5 ml *brom P*. Sesudah larut, encerkan dengan air hingga 100 ml. Larutan dibuat segar.

**Natrium hipoklorit P, larutan NaOCl**; BM 74,44; [7681-52-9]. Larutan natrium hipoklorit dalam air mengandung tidak kurang dari 5,25% NaOCl.

[Perhatian Larutan ini bersifat korosif dan dapat melepaskan gas yang bersifat korosif dan toksik. Merupakan oksidator kuat yang menimbulkan reaksi hebat dengan reduktor. Bersifat iritasi dan korosif terhadap kulit dan selaput lendir].

*Pemerian* Cairan jernih, kuning sampai hijau kekuningan, bau klor, dipengaruhi oleh cahaya dan terurai secara bertahap. Simpan di tempat terlindung cahaya, sebaiknya pada suhu di bawah 25°.

*Penetapan kadar* Masukkan lebih kurang 3 ml zat ke dalam labu iodium bertutup asah yang telah ditara dan ditimbang saksama. Tambahkan 50 ml air, 2 g *kalium iodida P* dan 10 ml *asam asetat P*. Tutup labu dan biarkan di tempat gelap selama 10 menit. Angkat tutup, bilas dinding labu dengan sedikit air. Titrasi iodium yang dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* saat mendekati titik akhir titrasi.

Tiap ml *natrium tiosulfat 0,1 N*  
setara dengan 3,723 mg NaOCl

Jika diperlukan untuk menghitung persentase klor yang ada, tiap ml *natrium tiosulfat 0,1 N* setara dengan 3,545 mg klor ( $Cl_2$ ).

*Kalsium* Tidak lebih dari 10 bpj. Masukkan 10,0 g zat ke dalam gelas piala 150 ml, larutkan dalam 10 ml air, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan 2 g *kalium iodida P*. Panaskan campuran selama 5 menit, dinginkan dan tambahkan 2 ml *hidrogen peroksida P* 30%. Uapkan hingga kering, dinginkan dan tambahkan 2 ml *asam klorida P* dan 2 ml *hidrogen peroksida P* 30%. Bilas dinding gelas piala dengan sedikit air, uapkan hingga kering. Masukkan residu ke dalam 20 ml air, saring jika perlu. Tambahkan *amonium hidroksida P* pada filtrat, sampai larutan tepat basa, tambahkan 4 tetes *amonium hidroksida P* dan 5 ml *amonium oksalat LP*: kekeruhan yang terjadi dalam waktu 15 menit tidak melebihi

blangko yang mengandung 0,1 mg kalsium yang ditambahkan.

*Fosfat* Tidak lebih dari 5 bpj. Masukkan 2 g zat ke dalam gelas piala, tambahkan 5 ml *asam klorida P* dan 2 g *kaliun iodida P*. Panaskan larutan selama 5 menit, dinginkan. Tambahkan 2 ml *hidrogen peroksida P* 30% dan uapkan larutan sampai kering. Bilas dinding gelas piala dengan sedikit air. Tambahkan 2 ml *asam klorida P* dan 2 ml *hidrogen peroksida P* 30%. Uapkan lagi sampai kering.

**Natrium hipoklorit 3,5% LP** Gunakan *natrium hipoklorit LP*.

**Natrium indigotindisulfonat P** Gunakan *indigo karmin P*.

**Natrium indigotindisulfonat LP** Gunakan *indigo karmin LP*.

**Natrium iodida P** NaI; BM 149,9; [7681-82-5]; murni pereaksi.

**Natrium karbonat P** Gunakan *natrium karbonat anhidrat P*.

**Natrium karbonat LP** Larutkan 10,6 g *natrium karbonat anhidrat P* dalam air hingga 100 ml.

**Natrium karbonat anhidrat P** Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; BM 105,99; [479-19-8]; murni pereaksi.

**Natrium karbonat dekahidrat P** Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·10H<sub>2</sub>O; BM 286,2; [6132-02-1]; murni pereaksi.  
*Titik leleh* Lebih dari 300°.

**Natrium karbonat monohidrat P** Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O; BM 124,00; [5968-11-6]; murni pereaksi.

**Natrium klorida P** NaCl; BM 58,44; [7647-14-5]; murni pereaksi.

**Natrium kobaltinitrit P** Na<sub>3</sub>Co(NO<sub>2</sub>)<sub>6</sub>; BM 403,94; [13600-98-1]; murni pereaksi.

**Natrium kobaltinitrit LP** Larutkan 10 mg *natrium kobaltinitrit P* dalam air hingga 50 ml, saring jika perlu.

**Natrium kromotropat P** Gunakan *asam kromotropat P*.

**Natrium lauril sulfat P** *Natrium dodesil sulfat P*; C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>SO<sub>4</sub>Na; BM 288,38; [151-21-3];  
*Pemerian* Serbuk hablur, kuning muda.

**Natrium merah metil P** 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo]benzoat, *garam natrium*; 2-[4-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N:N]C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COONa; BM 291,28.

*Pemerian* Serbuk, cokelat jingga.  
*Kelarutan* Mudah larut dalam air dingin, dan dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 4,2 dan 6,2. Perubahan warna: dari merah ke kuning.

**Natrium metabisulfid P** Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; BM 190,11; [7681-57-4]; murni pereaksi.

**Natrium molibdat P** Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O; BM 241,95; [7631-95-0]; murni pereaksi.

**Natrium nitrat P** NaNO<sub>3</sub>; BM 84,99; [7631-99-4]; murni pereaksi.

**Natrium nitrit P** NaNO<sub>2</sub>; BM 69,00; [7632-00-0]; murni pereaksi.

**Natrium nitrit LP** Larutan *natrium nitrit P* 10% b/v yang dibuat segar.

**Natrium nitroferisianida P** *Natrium pentasiano nitrosilferat(III)* Na<sub>2</sub>Fe(NO)(CN)<sub>5</sub>; BM 297,95; [13755-38-9]; murni pereaksi.

**Natrium nitroferisianida LP** Larutkan 1 g *natrium nitroferisianida P* dalam air hingga 20 ml. Larutan dibuat segar.

**Natrium nitroprusida P** Gunakan *Natrium nitroferisianida P*

**Natrium nitroprusida LP** Gunakan *Natrium nitroferisianida LP*

**Natrium oksalat P** Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; BM 134,00; [62-76-0]; murni pereaksi.  
*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

**Natrium 1-oktanasulfonat P** C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NaO<sub>3</sub>S; BM 216,27; [5324-84-5]; murni pereaksi.

**Natrium oktil sulfat P** C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NaO<sub>4</sub>S; BM 232,3; [142-31-4]. Gunakan mutu pereaksi untuk kromatografi.

**Natrium 1-pentansulfonat P** C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NaO<sub>3</sub>S·H<sub>2</sub>O; BM 192,21; [207605-40-1]; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 98% C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NaO<sub>3</sub>S·H<sub>2</sub>O.

**p-Natrium periodat P** Na<sub>3</sub>H<sub>2</sub>IO<sub>6</sub>; BM 293,89; murni pereaksi.

**Natrium perklorat P** NaClO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O; BM 140,46; [7601-89-0]; murni pereaksi.

**Natrium perklorat LP** Netralkan 50 ml *asam perklorat 9 N* dengan *natrium hidroksida 5 N* menggunakan kertas lakmus dan encerkan dengan air hingga 300 ml.

**Natrium pirofosfat P** Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; BM 265,90; [7722-88-5]; murni pereaksi.

**Natrium piruvat P**  $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{Na}$ ; BM 110,04; [113-24-6]. Mengandung tidak kurang dari 98%  $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{Na}$ .

*Pemerian* Serbuk atau padatan hablur, putih.

*Kelarutan* Larut dalam air.

*Kejernihan larutan* Larutkan 1,5 g zat dalam 25 ml air: larutan jernih dan larut sempurna.

*Asam bebas* Tidak lebih dari 1% sebagai  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ , lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 10 g zat dalam 150 ml air dan titrasi dengan *natrium hidroksida* 0,5 N, tentukan titik akhir secara potensiometrik: diperlukan tidak lebih dari 2,8 ml *natrium hidroksida* 0,5 N.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala, tambahkan 150 ml *asam asetat glasial P* dan kocok sampai larut. Titrasi dengan *asam perklorat* 0,1 N LV, tentukan titik akhir secara potensiometrik, menggunakan elektrode kaca dan elektrode kalomel yang telah dimodifikasi dengan *tetrametilamonium klorida* 0,1 N dalam *metanol P* sebagai elektrolit. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml *asam perklorat* 0,1 N setara dengan 11,00 mg  $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{Na}$

**Natrium salisilat P**  $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$  BM 160,10 [54-21-7] Gunakan *Natrium Salisilat* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V dan tambahkan dengan uji di bawah ini:

*Nitrat* Larutkan 100 mg zat dengan 5 ml air dalam tabung reaksi tambahkan 5 ml *asam sulfat P*: tidak boleh terjadi warna merah kecokelatan di antara kedua lapisan cairan.

**Natrium selenit P**  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ; BM 172,94; [10102-18-8]. Mengandung tidak kurang dari 98% dan tidak lebih dari 101%  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih, tidak berbau, biasanya terhidrasi sebagian.

*Kelarutan* Mudah larut dalam air; tidak larut dalam etanol.

*Kejernihan larutan* Larutan 1 g zat dalam 10 ml air: menunjukkan tidak lebih dari sedikit keruh.

*Karbonat* Tidak lebih dari 0,03%. Ke dalam 500 mg zat tambahkan 1 ml air dan 2 ml *asam klorida encer P*: tidak terjadi gelembung gas.

*Klorida* Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 500 mg zat.

*Nitrat* Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 200 mg zat, larutkan dalam 3 ml air.

*Selenat dan Sulfat* Tidak lebih dari 0,03% sebagai sulfat. Masukkan 500 mg zat ke dalam cawan penguap, tambahkan 20 mg *natrium karbonat P* dan 10 ml *asam klorida P*. Uapkan perlahan-lahan larutan di atas tangas uap, dalam lemari asam, hingga kering. Bilas dinding cawan penguap dengan 5 ml *asam klorida P*, uapkan lagi sampai kering. Larutkan residu dengan campuran 15 ml air panas dan 1 ml *asam klorida P*, lanjutkan proses

seperti tertera pada *Sulfat* dalam *Uji Pereaksi Metode I* mulai dengan "Saring larutan". Zat uji menunjukkan tidak lebih keruh dari kekeruhan yang dihasilkan 0,15 mg sulfat.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 180 mg zat, yang telah dikeringkan pada suhu 120° hingga bobot tetap, dan larutkan dalam 50 ml air dalam labu bersumbat kaca. Tambahkan 3 g *kaliun iodida P* dan 5 ml *asam klorida P*, tutup labu dan diamkan 10 menit. Tambahkan 50 ml air; 50,0 ml *natrium tiosulfat* 0,1 N LV dan 3 ml *kanji LP*, titrasi segera dengan *iodum* 0,1 N LV hingga warna biru. Lakukan penetapan blangko. Perbedaan volume *iodum* 0,1 N LV yang diperlukan untuk blangko dan larutan zat menunjukkan natrium selenit.

Tiap ml *iodum* 0,1 N setara dengan 4,323 mg  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$

**Natrium sianida P**  $\text{NaCN}$ ; BM 49,01; [1433-33-9]; murni pereaksi.

**Natrium sitrat P** Gunakan *Natrium Sitrat dihidrat P*.

**Natrium sitrat dihidrat P** *Asam 2-hidroksi-1,2,3-propanetrikarboksilik, garam trinatrium, dihidrat*;  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; BM 294,10; [6132-04-3]; murni pereaksi.

**Natrium sulfat P** *Garam Glauber*;  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ; BM 322,20; [7727-73-3]; murni pereaksi.

**Natrium sulfat anhidrat P**  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; BM 142,04; [7757-82-6]; murni pereaksi. Untuk penetapan kadar alkaloid secara kromatografi gas-cair, harus memenuhi persyaratan uji tambahan di bawah ini:

*Kesesuaian untuk penetapan kadar alkaloid* Timbang saksama lebih kurang 10 mg atropin, masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *etanol P* sampai tanda. Pipet 3 ml larutan, masukkan masing-masing ke dalam dua corong pisah 60 ml, dan tambahkan masing-masing 10 ml air, 1 ml *natrium hidroksida* 1 N dan 10 ml *kloroform P*. Kocok kuat dan biarkan lapisan memisah. Saring fase organik dari satu corong pisah melalui kertas saring, yang telah dibasahi dengan 5 ml *kloroform P*, dipasang pada corong, dan kumpulkan filtrat pada wadah yang sesuai. Tambahkan 10 ml *kloroform P* ke corong pisah, kocok kuat dan saring lapisan organik melalui kertas saring yang sama, kumpulkan filtrat dalam wadah yang sama. Kumpulan filtrat ini disebut *Larutan A*. Saring fase organik dari corong pisah kedua melalui 30 g *natrium sulfat anhidrat P*, yang ditahan dengan wol kaca dalam corong yang kecil, yang sebelumnya dibasahi dengan *kloroform P*, dan kumpulkan filtrat dalam wadah yang sesuai. Tambahkan 10 ml *kloroform P* ke dalam corong pisah, kocok kuat dan saring lapisan organik melalui *natrium sulfat anhidrat P* yang sama, kumpulkan filtrat ke dalam wadah yang sama. Kumpulan filtrat ini disebut *Larutan B*. Uapkan kedua larutan tersebut dalam hampa

udara hingga volume lebih kurang 1 ml. Suntikkan sejumlah volume *Larutan A* yang telah diukur saksama, ke dalam kromatograf gas dan rekam tinggi puncak. Ulangi penetapan sekali lagi dan dapatkan hasil rata-rata. Dengan cara yang sama, tentukan tinggi puncak dari *Larutan B* dua kali dan didapat hasil rata-rata. Nilai rata-rata yang dihasilkan *Larutan B* tidak menyimpang lebih dari 5,0% dari hasil *Larutan A*. Kromatograf gas dilengkapi dengan kolom 1,2 m x 4 mm berisi bahan pengisi 3% fase diam *G3* pada penyangga *SLA*. Pertahankan suhu kolom, injektor dan detektor berturut-turut pada 210°, 225°, dan 240°. Gas pembawa *helium P*, laju alir lebih kurang 60 ml per menit.

**Natrium sulfat dekahidrat P** Gunakan *natrium sulfat P*.

**Natrium sulfida P**  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ; BM 240,18; [1313-84-4]; murni pereaksi.

**Natrium sulfida LP** Larutkan 1 g *natrium sulfida P* dalam air hingga 10 ml. Larutan dibuat segar.

**Natrium sulfit P** Gunakan *natrium sulfit anhidrat P*.

**Natrium sulfit anhidrat P**  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ; BM 126,04; [7753-83-7]; murni pereaksi.

**Natrium tetraborat P** Gunakan *natrium borat P*.

**Natrium tetrafenilborat P**  $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$ ; BM 342,22; [143-66-8]; murni pereaksi.

**Natrium tioglikolat P**  $\text{HSCH}_2\text{COONa}$ ; BM 114,10; [367-51-1]. Mengandung tidak kurang dari 75%  $\text{HSCH}_2\text{COONa}$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih, bau khas lemah. Higroskopik dan teroksidasi di udara, simpan dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Tidak boleh digunakan jika warna menjadi kuning pucat atau gelap.

*Kelarutan* Sangat mudah larut dalam air; sukar larut dalam etanol.

*Kejernihan larutan* Larutan 1 g zat dalam 10 ml air, jernih dan praktis larut sempurna.

*Sulfida* Larutkan 500 mg zat dalam 10 ml air dalam labu kecil tambahkan 2 ml *asam klorida P*, kemudian letakkan kertas saring yang dibasahi *timbal(II) asetat LP*, di atas mulut labu dan panaskan sampai mendidih; kertas *timbal(II) asetat* tidak menjadi gelap.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat dan larutkan dalam 50 ml air bebas oksigen. Tambahkan 5 ml *asam klorida encer P*, dididihkan selama 2 menit, dinginkan, titrasi dengan *iodum 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* setelah mendekati titik akhir:

Tiap ml *iodum 0,1 N*  
setara dengan 11,41 mg  $\text{HSCH}_2\text{COONa}$

**Natrium tiogliserat P** Gunakan *natrium tioglikolat P*.

**Natrium tiosulfat P**  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; BM 248,19; [10102-17-7]; murni pereaksi.

**Natrium tungstat P**  $\text{Na}_2\text{WO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; BM 329,85; [10213-10-2]; murni pereaksi.

**Nessler, pereaksi** Gunakan *Raksa(II) kalium iodida alkalis LP*.

**Niasin P**  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ ; BM 123,11; [59-67-6]; murni pereaksi.

**Nikel(II) sulfat heptahidrat P**  $\text{NiSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; BM 280,9; [10101-98-1]; murni pereaksi.

**Ninhidrin P**  $\text{C}_9\text{H}_4\text{O}_3\cdot \text{H}_2\text{O}$ ; BM 178,14; [485-47-2], murni pereaksi

**Ninhidrin LP** Gunakan *triketohidriden hidrat LP*.

**o-Nitroanilin P**  $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ ; BM 138, 12; [88-74-4].

*Pemerian* Hablur, kuning jingga.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dingin; larut dalam air panas; mudah larut dalam etanol dan dalam kloroform. Dengan asam mineral membentuk garam yang larut dalam air.

*Jarak lebur* <741> Antara 71° dan 72°.

**p-Nitroanilin P**  $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ ; BM 138,12; [100-01-6].

*Pemerian* Serbuk hablur, kuning cerah.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam eter.

*Kelarutan dalam pelarut* Larutkan secara terpisah 1 g dalam 30 ml *etanol P* dan dalam 40 ml *eter P*: larutan jernih.

*Jarak lebur* <741> Antara 146° dan 148°.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,2%.

**p-Nitroanilin diazotasi LP** Timbang 350 mg *p-nitroanilin P* masukkan dalam labu tentukur 50-ml, tambahkan 1,5 ml *asam klorida P*, campur, encerkan dengan air sampai tanda. Diamkan, pipet 5 ml beningan, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, rendam dalam tangas es dan tambahkan 1 ml *asam klorida P* kemudian sedikit demi sedikit 2 ml larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 100), encerkan dengan air sampai tanda.

**Nitrobenzen P**  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ ; BM 123,11; [98-95-3]; murni pereaksi.

**p-Nitrobenzendiazonium tetrafluoroborat P**  $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{BF}_4$ ; BM 236,92; [456-27-9]. Mengandung tidak kurang dari 95,0%  $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{BF}_4$ .

*Pemerian* Hablur, kuning emas.

*Kelarutan* Larut dalam asetonitril.

[Perhatian Sangat peka terhadap goncangan; simpan di lemari pendingin].

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml kaca aktinik rendah. Larutkan dan encerkan dengan

asam klorida 0,01 N sampai tanda. Gunakan alat kaca aktinik rendah, encerkan 2,0 ml larutan dengan metanol P mutu spektrofotometri hingga 50,0 ml. Ukur serapan larutan pada lebih kurang 255 nm, gunakan metanol P mutu spektrofotometri sebagai blangko. Hitung serapan jenis dengan cara membagi serapan dengan kadar dalam g per ml. Hitung nilai kadar zat dengan rumus :

$$\left( \frac{100a}{59,4} \right)$$

a adalah serapan jenis larutan.

**4-(p-Nitrobenzil)piridin P** C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; BM 214,22; [1083-48-3].

Pemerian Hablur, kuning

Kelarutan Larut dalam aseton.

**5-Nitro-1,10-fenantrolin P** C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>; BM 225,20; [4199-88-6].

Pemerian Serbuk, putih, tidak berbau.

Kelarutan Larut dalam air.

Jarak lebur <741> Antara 198° dan 200°.

Kesesuaian sebagai indikator redoks Larutkan 25 mg zat dengan sedikit asam sulfat encer P, tambahkan 10 mg besi(II) sulfat P, encerkan dengan air hingga 100 ml: larutan berwarna merah gelap dan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 510 nm. Pada 1,0 ml larutan tambahkan 1,0 ml serium(IV) sulfat 0,01 M: warna merah hilang.

**Nitrofenantrolin LP** Larutkan 150 mg 5-nitro-1,10-fenantrolin P dalam 15 ml larutan besi (II) sulfat P (1 dalam 140) yang dibuat segar.

**4-Nitrofenil dinatrium ortofosfat P**

C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NNa<sub>2</sub>O<sub>6</sub>P.6H<sub>2</sub>O; BM 371,2; murni pereaksi.

**Nitrofenil fosfat LP** Timbang 4,08 g 4-nitrofenil dinatrium ortofosfat P masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan Dapar dietanolamina pH 10,0 sampai tanda. Simpan pada suhu 4° dan gunakan dalam waktu 24 jam.

**Nitrogen P** Gunakan Nitrogen seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Nitrogen bebas oksigen P** Nitrogen P yang telah dilewatkan melalui pirogalol basa LP.

**Nitrometan P** CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>; BM 61,04; [75-52-5].

**Nitroso R, garam P** Dinatrium 1-nitroso-2-naftol-3,6-dinatrium disulfonat; NOC<sub>10</sub>H<sub>4</sub>OH(SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; BM 377,26; [525-05-3].

Pemerian Hablur atau serbuk hablur, kuning.

Kelarutan 1 g zat larut dalam lebih kurang 40 ml air, tidak larut dalam etanol.

Kepekaan Larutkan 500 mg natrium asetat P; dalam larutan 0,4 mg kobalt klorida P (0,1 mg kobalt) dalam 5 ml air. Tambahkan 1 ml asam asetat encer P dan 1 ml

larutan garam nitroso R P (1 dalam 500): segera terjadi warna merah, warna tidak hilang saat larutan dididihkan dengan 1 ml asam klorida P selama 1 menit.

**1-Nitroso-2-naftol P** C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>; BM 173,17; [131-91-9]. Mengandung tidak kurang dari 95,0% C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>.

Pemerian Serbuk, cokelat sampai cokelat kekuningan.

Kelarutan Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dalam benzen, dalam eter, dalam karbontetraklorida dan dalam asam asetat.

Jarak lebur <741> Antara 109° dan 111°.

Sisa pemijaran Tidak lebih dari 0,2%; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi.

Penetapan kadar Timbang saksama sejumlah lebih kurang 250 mg zat yang telah dikeringkan di atas silika gel sampai bobot tetap. Masukkan ke dalam labu bersumbat kaca dan larutkan dalam 10 ml larutan natrium hidoksida P (1 dalam 10). Dinginkan larutan dalam tangas es, tambahkan larutan asam sulfat P (1 dalam 6) hingga terbentuk sedikit endapan yang stabil dan larutan bereaksi asam lemah. Kemudian tambahkan 3 g kalium iodida P, kocok sampai larut, tambahkan 20 ml larutan asam sulfat P (1 dalam 6), segera sumbat labu dan diamkan dalam gelap selama 2 jam. Titrasi iodum bebas dengan natrium tiosulfat 0,1 N LV, tambahkan 3 ml kanji LP saat mendekati titik akhir. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 8,66 mg C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>

**Nonan-5-on P** Di-n-butyl keton; C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O; BM 142,2; [502-56-7]; murni pereaksi

Bobot per ml Lebih kurang 830 mg.

Suhu didih Lebih kurang 188°.

**Oksigen P** Gunakan Oksigen seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Oktadesil silan P** [18623-11-5] Pereaksi ini terjadi "in situ" dengan mereaksikan bahan penyangga kolom dengan zat sililasi seperti oktadesil triklorosilan.

**1-Oktanol P** Alkohol C<sub>8</sub>; Capryl Alkohol; n-Oktil alkohol P; CH<sub>3</sub>.(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>.OH; BM 130,23; [111-87-5]; murni pereaksi.

**n-Oktanol P** Gunakan 1-oktanol P.

**n-Oktil alkohol P** Gunakan oktan-1-ol P.

**Oktosinol 9 P** (p-tert-oktifenoksi)nonaetoksietanol; C<sub>34</sub>H<sub>62</sub>O<sub>11</sub>; BM 646,85.

**Ortofenantrolin P** Gunakan 1,10-fenantrolin P.

**Ortofenantrolin LP** Larutkan 150 mg ortofenantrolin P dalam 10 ml larutan besi(II) sulfat P, yang dibuat dengan melarutkan 700 mg hablur jernih besi(II) sulfat P dalam



100 ml air. Larutan besi(II) sulfat harus dibuat segar sebelum melarutkan ortofenantrolin.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik.

**Osmium tetroksida P** *Asam osmat P; Anhidrida perosmat P; OsO<sub>4</sub>; BM 254,20; [20816-12-0]; murni* pereaksi.

**Paladium, Katalis P Murni** pereaksi.

**Paladium(II) klorida P** PdCl<sub>2</sub>; BM 177,33; [7647-10-1]; murni pereaksi. Mengandung lebih kurang 59,0% Pd.

*Pemerian* Serbuk, merah kecokelatan; higroskopik.

*Kelarutan* Larut dalam air, etanol, aseton dan asam klorida encer.

*Penetapan kadar* Timbang seksama 80 mg zat, larutkan dalam 10 ml *asam klorida P*, encerkan dengan 50 ml air, dan tambahkan 25 ml larutan *dimetilgliksim P* dalam *etanol P* (1 dalam 100). Biarkan selama 1 jam, dan saring. Pastikan endapan terbentuk sempurna dengan larutan *dimetilgliksim*. Pijarkan endapan dengan krus platinum yang telah ditara pada suhu 850° selama 2 jam, dinginkan dan timbang palladium.

**Parafin P** Gunakan *Parafin* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Parafin cair P** Gunakan *Parafin Cair* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Paraformaldehida P** (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>; [30525-89-4]. Mengandung tidak kurang dari 95% HCHO.

*Pemerian* Serbuk halus, putih, bau khas formaldehida.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,1%.

*Kelarutan dalam ammonia* Larutkan 5 g zat dalam 50 ml larutan *ammonium hidroksida LP*: larutan praktis jernih dan tidak berwarna.

*Keasaman-kebasaaan* Kocok 1 g zat dengan 20 ml air selama 1 menit dan saring: larutan bereaksi netral terhadap *lakmus P*.

*Penetapan kadar* Timbang seksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang berisi 50,0 ml *natrium hidroksida 1 N LV*, aduk. Segera tambahkan hati-hati 50 ml *hidrogen peroksida LP* yang sudah dinetralkan terhadap *biru bromotimol LP* melalui corong kecil yang diletakkan pada leher labu. Setelah reaksi mereda, bilas corong dan dinding labu dengan air, diamkan selama 30 menit, tambahkan *biru bromotimol LP*, titrasi kelebihan alkali dengan *asam sulfat 1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium hidroksida 1 N setara dengan 30,03 mg HCHO*

**Pati larut P** Gunakan *kanji larut P*.

**Pelarut impregnasi** Campuran 1 bagian *formamida P* dan 9 bagian *aseton P*.

**Pentana P** *n-Pentana; C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>; BM 72,15; [109-66-0].*

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna; mudah terbakar.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air; bercampur dengan etanol, dengan eter dan dengan banyak pelarut organik lain.

*Bobot jenis* Lebih kurang 0,62.

*Jarak didih* Tidak kurang dari 95% terdestilasi antara suhu 34° dan 36°.

**2,4-Pentanadion P** Gunakan *asetil aseton P*.

**Penyangga kromatografi gas** Gunakan *Penyangga* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

**Pepsin P** [9001-75-6] Dengan aktivitas 1,0 unit hingga 1,17 unit Pepsin per mg. Pepsin dengan aktivitas yang lebih tinggi dapat diturunkan dengan penambahan pepsin dengan aktivitas lebih rendah atau dengan laktosa.

**Pepton daging P** Gunakan *pepton kering P*.

**Pepton kering P** *Pepton daging P*.

*Pemerian* Serbuk, kuning kemerahan hingga cokelat, bau khas tetapi tidak busuk.

*Kelarutan* Larut dalam air, membentuk larutan cokelat kekuningan, bereaksi sedikit asam; tidak larut dalam etanol dan dalam eter.

*Kandungan nitrogren* Antara 14,2% dan 15,5% N; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, dengan metode Kjeldahl, menggunakan zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° sampai bobot tetap: menunjukkan tidak kurang dari 89% protein.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 5,0%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 500 mg zat dan 1 ml *asam sulfat P*.

*Susut pengeringan <1121>* Tidak lebih dari 7,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° sampai bobot tetap.

*Protein mudah terkoagulasi* Panaskan sampai mendidih larutan (1 dalam 20) yang telah disaring: tidak terbentuk endapan.

*Proteosa* Campurkan 5 ml larutan (1 dalam 10) yang telah disaring, dengan 20 ml larutan zink sulfat (50 g dalam 35 ml air) yang telah disaring: hanya sedikit terbentuk gumpalan.

**Perak ammonium nitrat LP** Gunakan *perak nitrat amoniakal LP*.

**Perak dietilditiokarbamat P** (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>NCS<sub>2</sub>Ag; BM 256,14; [1470-61-7]; murni pereaksi.

**Perak dietilditiokarbamat LP** Larutkan 1g *perak dietilditiokarbamat P* dalam 200 ml *ptridina P* yang baru didestilasi.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tidak tembus cahaya. Gunakan sebelum 30 hari.

**Perak nitrat P** AgNO<sub>3</sub>; BM 169,87; [7761-88-8]; murni pereaksi.

**Perak nitrat amoniakal LP Perak Amonium Nitrat LP** Larutkan 2,5 g perak nitrat P dalam 80 ml air, tambahkan tetes demi tetes ammonium hidroksida 6 M sampai endapan larut dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Perak oksida P**  $\text{Ag}_2\text{O}$ ; BM 231,74; [20667-12-3]. Mengandung tidak kurang dari 99,7%  $\text{Ag}_2\text{O}$ .

*Pemerian* Serbuk berat, hitam kecokelatan, tidak berbau. Terurai perlahan pada pemaparan cahaya dan menyerap karbon dioksida jika lembab.

*Kelarutan* Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam asam nitrat encer dan dalam ammonium hidroksida; tidak larut dalam etanol.

*Susut pengeringan* Tidak lebih dari 0,25% bobot; lakukan pengeringan pada suhu  $120^\circ$  selama 3 jam.

*Nitrat* Tidak lebih dari 0,002%. Pada 500 mg zat tambahkan 30 mg natrium karbonat P dan 2 ml asam fenoldisulfonat LP, campur dan panaskan di atas tangan air selama 15 menit. Dinginkan, hati-hati tambahkan 20 ml air, buat alkalis dengan ammonia LP, dan encerkan dengan air hingga 30 ml: warna yang diperoleh dari larutan zat tidak lebih gelap dari warna larutan perbandingan yang mengandung 0,01 mg  $\text{NO}_3$ .

*Zat tak larut dalam asam nitrat* Tidak lebih dari 1 mg (0,02%). Larutkan 5 g zat dalam campuran 5 ml asam nitrat P dan 10 ml air, encerkan dengan air hingga lebih kurang 65 ml, dan saring residu yang tidak larut pada krus penyaring yang telah ditara (gunakan filtrat untuk uji *Zat tak mengendap dengan asam klorida*). Cuci krus dengan air sampai cucian terakhir tidak menunjukkan opalesensi dengan 1 tetes asam klorida P, dan keringkan pada suhu  $105^\circ$  sampai bobot tetap.

*Zat tak mengendap dengan asam klorida* Tidak lebih dari 1,7 mg (0,05%). Encerkan filtrat yang diperoleh dari uji *Zat tak larut dalam asam nitrat* dengan air hingga 250 ml, panaskan hingga mendidih, dan tambahkan secukupnya tetes demi tetes asam klorida P untuk mengendapkan semua perak (lebih kurang 5 ml), hindari penambahan yang berlebihan. Dinginkan, encerkan dengan air hingga 300 ml, dan biarkan semalam. Saring, uapkan 200 ml filtrat dalam cawan porselen yang telah ditara sampai kering dan pijarkan.

*Kebasaan* Panaskan 2 g zat dengan 40 ml air di atas tangas uap selama 15 menit. Dinginkan dan encerkan dengan air hingga 50 ml. Saring, buang 10 ml filtrat pertama. Pada 25 ml filtrat berikutnya tambahkan 2 tetes fenoltalein LP, dan titrasi dengan asam klorida 0,02 N LV sampai warna merah muda hilang; diperlukan tidak lebih dari 0,20 ml (0,016% NaOH).

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat yang telah dikeringkan pada suhu  $120^\circ$  selama 3 jam, larutkan dalam campuran 20 ml air dan 5 ml asam nitrat P. Encerkan dengan 100 ml air, tambahkan 2 ml besi(III) ammonium sulfat LP, dan titrasi dengan ammonium tiosianat 0,1 N LV sampai warna cokelat kemerahan yang tetap.

Tiap ml ammonium tiosianat 0,1 N setara dengan 11,59 mg  $\text{Ag}_2\text{O}$

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik, hindari dari uap amoniak atau zat-zat yang mudah mengoksidasi.

**Pereaksi Deniges** Gunakan raksa(II) sulfat LP.

**Pereaksi Mayer** Gunakan raksa(II) kalium iodida LP.

**Pereaksi Nessler** Gunakan raksa(II) kalium iodida alkalis LP.

**Petroleum eter P** Gunakan eter minyak tanah P.

**1-(2-Piridilazo)-2-naftol P** 1-(2-Piridilazo)-2-naftol P;  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}$ ; BM 249,3; [85-85-8]. Murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur, merah jingga.

*Jarak lebur* Antara  $140^\circ$  dan  $142^\circ$ .

*Kepekaan* Tambahkan 0,1 ml larutan 1-(2-Piridilazo)-2-naftol P dalam etanol P (1 dalam 1000) ke dalam campuran 10 ml air dan 1 ml dapar yang dibuat dengan mencampurkan 80 ml asam asetat 0,2 M dan 20 ml larutan natrium asetat P (8,2 dalam 100). Pada larutan ini tambahkan 1 ml campuran tembaga(II) sulfat LP dan 2 ml air, campur: terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah.

**Piridilazonaftol, PAN P;** Gunakan 1-(2-Piridilazo)-2-naftol P.

**Piridin P**  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ; BM 79,10; [110-86-1]; murni pereaksi.

**Piridin anhidrat P** [110-86-1]; murni pereaksi.

**Piridoksal hidroklorida P**  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$ ; BM 203,62; [65-22-5].

*Pemerian* Serbuk hablur atau hablur, putih hingga kekuningan, warna menjadi gelap jika terpapar udara atau cahaya matahari.

*Kelarutan* 1 g larut dalam lebih kurang 2 ml air dan dalam lebih kurang 25 ml etanol; tidak larut dalam aseton, dalam kloroform dan dalam eter. Larutan bersifat asam ( $\text{pH} \pm 3$ ).

*Jarak lebur* <1021> Antara  $171^\circ$  dan  $175^\circ$  disertai peruraian.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 0,5% lakukan pengeringan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

*Kandungan nitrogen* Antara 6,7% dan 7,1% N; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji Pereaksi, dengan metode Kjeldahl menggunakan zat yang telah dikeringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam.

*Kandungan klorida* Antara 17,2% dan 17,7%; Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat yang telah dikeringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 2 jam, larutkan dalam 50 ml air. Tambahkan 3 ml asam nitrat P dan 50,0 ml perak nitrat 0,1 N LV, kemudian tambahkan 5 ml nitrobenzen P, kocok selama lebih kurang 2 menit,

tambahkan *besi(III) ammonium sulfat LP*, dan titrasi kelebihan perak nitrat dengan *ammonium tiosianat 0,1 N LV*.

*Tiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 3,545 mg Cl*

**Piridoksamin dihidroklorida P**  $C_8H_{12}N_2O_2 \cdot 2HCl$ ; BM 241,12; [524-36-7]

*Pemerian* Serbuk hablur atau hablur, putih atau sedikit kuning, warna bertambah gelap jika terpapar udara atau cahaya matahari.

*Kelarutan* 1 g larut dalam lebih kurang 1 ml air dan dalam lebih kurang 60 ml etanol; tidak larut dalam kloroform dan dalam eter. Larutan bersifat asam.

*Jarak lebur* <1021> Antara 225° dan 230° disertai peruraian.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,15%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 0,5%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

*Kandungan nitrogen* Antara 11,3% dan 11,8% N; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*, dengan metode Kjeldahl, menggunakan zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 2 jam.

*Kandungan klorida* Antara 29,1% dan 29,6% Cl; lakukan penetapan seperti tertera pada *Kandungan klorida* dalam *Piridoksil hidroklorida P*.

**Piridoksin hidroklorida P** Gunakan *Piridoksin Hidroklorida* seperti pada Monografi Farmakope Indonesia V.

**Pirogalol P** *1,2,3-Trihidroksibenzen*;  $C_6H_3(OH)_3$ ; BM 126,1; [87-66-1]; murni pereaksi.

**Pirogalol basa LP** Larutkan 500 mg *pirogalol P* dalam 2 ml air bebas karbon dioksida P, larutkan 12 g kalium hidrokksida P dalam 8 ml air. Campur kedua larutan segera sebelum digunakan.

**Pirol P**  $C_4H_5N$ ; BM 67,09; [109-97-7].

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna jika didestilasi segar, menjadi kuning dalam beberapa hari; berbau khas.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dalam benzen dan dalam eter.

*Bobot jenis* Lebih kurang 0,94.

*Jarak didih* Tidak kurang dari 90% terdestilasi antara 128° dan 132°; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Plasma sedikit platelet P** Ambil 45 ml darah manusia menggunakan alat suntik plastik 50 ml yang berisi 5 ml larutan steril *trinatrium sitrat P* 3,8%. Segera sentrifus seluruh darah yang mengandung sitrat dengan kecepatan 1150 putaran per menit selama 30 menit pada suhu 4°. Hilangkan dua pertiga bagian plasma jernih dengan alat suntik plastik dan segera sentrifus pada 3500 putaran per menit selama 30 menit pada suhu 4°. Hilangkan dua pertiga bagian cairan dan bekukan segera dengan jumlah yang sesuai dalam tabung plastik pada suhu -40° atau

lebih rendah. Selama perlakuan gunakan peralatan yang terbuat dari bahan plastik atau tersilikonisasi.

**Platina(IV) klorida P** *Platina klorida P*; *Asam kloroplatinat(IV) P*;  $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ ; BM 517,91; [16941-12-1]; murni pereaksi.

**Platina(IV) klorida LP** Larutkan 2,6 g *platina(IV) klorida P* dalam air hingga 20 ml.

**Platinum kobalt LP** Larutkan 1,246 g *kalium kloroplatinat P* dan 1,000 g *klobat(II) klorida P* dalam air, tambahkan 100 ml *asam klorida P* dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Polietilen glikol 200 P**  $H(OCH_2CH_2)_nOH$  dengan rata-rata n adalah 4; rata-rata bobot molekul 200; [25322-68-3]; murni pereaksi.

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna atau hampir tidak berwarna, kental dan higroskopis.

*Kelarutan* Sangat larut dalam aseton dan dalam etanol, praktis tidak larut dalam eter dan dalam minyak lemak.

**Polietilen glikol 400 P** *Makrogol 400* Gunakan *Polietilen Glikol 400* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Polietilen glikol 600 P** [25322-68-3]; *Makrogol 600*.

*Pemerian* Cairan jernih, praktis tidak berwarna; polimer kondensasi cairan kental dihasilkan oleh  $H(OCH_2CH_2)_nOH$ ; n bervariasi dari 12 hingga 14. bobot molekul rata-rata lebih kurang 600. Memenuhi persyaratan seluruh uji *polietilen Glikol 400* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V, kecuali *Batas etilen dan dietilen glikol*.

**Polietilen glikol 1000 P** *Makrogol 1000*; [25322-68-3];

*Pemerian* Massa putih seperti malam.

*Titik beku* Lebih kurang 35°.

*Kekentalan pada larutan 50%* Lebih kurang 25 mPa.s

**Polietilen glikol 6000 P** *Makrogol 6000*.

*Pemerian* Massa putih seperti malam.

*Suhu lebur* Lebih kurang 61°.

*Kekentalan pada larutan 25%* Lebih kurang 20 mm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> pada suhu 20°.

**Polisorbat 20 P** Gunakan *Polisorbat 20* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Polisorbat 80 P** Gunakan *Polisorbat 80* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Polivinil alkohol P**  $(C_2H_4O)_n$ . [9002-89-5]

*Pemerian* Serbuk, putih.

*Kelarutan* Larut dalam air; tidak larut dalam pelarut organik.

*pH* <791> Antara 5,0 dan 8,0; lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 25).

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 5%; lakukan pengeringan pada suhu 110° hingga bobot tetap.  
*Sisa pemijaran* <301> Tidak lebih dari 0,75%.

**Prokainamida hidroklorida P** Gunakan *Prokainamida Hidroklorida* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia Edisi V.

**Propana-1,2-diol P** *Propilen glikol P*;  $\text{CH}_3\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ ; BM 76,10.

*Pemerian* Cairan tidak berwarna; kental, higroskopik.  
*Suhu didih* Lebih kurang 187°.  
*Bobot per ml* Lebih kurang 1,04 g.

**2-Propanil P** Gunakan *isopropil alkohol P*.

**n-Propil alkohol P** *1-Propanol P*;  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ; BM 60,10; [71-23-8].

**Propilen glikol P** Gunakan *Propilen Glikol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Propilparaben P** Gunakan *Propilparaben* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Raksa P** Hg; BA 200,59; murni pereaksi.

**Raksa(II) asetat P**  $\text{Hg}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ ; BM 318,68; murni pereaksi.

**Raksa(II) asetat LP** Larutkan 6,0 g *raksa(II) asetat P* dalam *asam asetat glasial P* hingga 100 ml.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup kedap, terlindung cahaya matahari langsung.

**Raksa(II) bromida-etanol LP** Larutkan 5 g *raksa(II) bromida P* dalam 100 ml *etanol P* dengan pemanasan perlahan-lahan untuk membantu pelarutan.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah kaca, terlindung cahaya.

**Raksa(II)-imidazol LP** Larutkan 8,25 g *imidazol P* yang telah dihablurkan kembali dalam 60 ml air, tambahkan 10 ml *asam klorida 5 M*. Aduk larutan secara mekanik dan teteskan 10 ml *larutan raksa(II) klorida P* 0,27%. Jika terjadi pengembunan, pisahkan dan buat larutan berikutnya dengan penetasan larutan *raksa(II) klorida P* lebih lambat. Atur pH hingga 6,75 - 6,85 dengan *asam klorida 5 M* (diperlukan lebih kurang 4ml) dan tambahkan air secukupnya hingga 100 ml.

**Raksa(II) iodida P** *Merkuri iodida P*; *Raksa(II) iodida merah P*;  $\text{HgI}_2$ ; BM 454,4; [7774-29-0]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur, merah.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah terlindung cahaya.

**Raksa(II) iodida LP** *Pereaksi Valser* Perlahan-lahan tambahkan larutan *kalium iodida P* (1 dalam 10) ke dalam *raksa(II) iodida merah P* hingga hampir semua

terlarut dan saring. Larutan yang mengandung 10 g *kalium iodida P* dalam 100 ml dapat melarutkan lebih kurang 14 g  $\text{HgI}_2$  pada suhu 20°.

**Raksa(II) iodida merah P** Gunakan *raksa(II) iodida P*.

**Raksa(II) kalium iodida LP** *Pereaksi Mayer* Larutkan 1,358 g *raksa(II) klorida P* dalam 60 ml air. Larutkan 5 g *kalium iodida P* dalam 10 ml air. Campur kedua larutan dan encerkan dengan air hingga 100 ml.

**Raksa(II) kalium iodida alkalis LP** *Pereaksi Nessler* Timbang 143 g *natrium hidroksida P*, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 700 ml air. Larutkan 50 g *raksa(II) iodida P* dan 40 g *kalium iodida P* dalam 200 ml air, tuangkan ke dalam larutan natrium hidroksida, tambahkan air sampai tanda. Diamkan sampai terbentuk endapan, gunakan beningan.

**Raksa(II) klorida P**  $\text{HgCl}_2$ , BM 271,50; murni pereaksi.

**Raksa(II) klorida LP** Larutkan 6,5 g *raksa(II) klorida P* dalam air hingga 100 ml.

**Raksa(I) nitrat P**  $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; BM 561,22; murni pereaksi.

**Raksa(I) nitrat LP** Larutkan 15 g *raksa(I) nitrat P* dalam campuran 90 ml air dan 10 ml *asam nitrat encer P*, simpan di tempat gelap, dalam botol berwarna cokelat yang berisi butiran kecil raksa.

**Raksa(II) nitrat P**  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ; BM 342,62; [10045-94-0]; murni pereaksi, tersedia dalam bentuk air kristal, mono atau dihidrat.

**Raksa(II) nitrat LP** Larutkan 40 g *raksa(II) oksida P* (merah atau kuning) dalam campuran 32 ml *asam nitrat P* dan 15 ml air.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah kaca, terlindung cahaya.

**Raksa(II) oksida P**  $\text{HgO}$ ; BM 216,59; murni pereaksi.

**Raksa(II) oksida kuning P**  $\text{HgO}$ ; BM 216,59; [21908-53-2]; murni pereaksi.

**Raksa(II) sulfat P**  $\text{HgSO}_4$ ; BM 296,65; murni pereaksi.

**Raksa (II) sulfat LP** *Pereaksi Deniges* Campur 5 g *raksa(II) oksida kuning P* dengan 40 ml air dan sambil diaduk perlahan-lahan tambahkan 20 ml *asam sulfat P*, kemudian tambahkan lagi 40 ml air, aduk hingga larut sempurna.

**Raksa(II) tiosianat P**  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ ; BM 316,76; [592-85-8]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Sangat sukar larut dalam air; sukar larut dalam etanol dan dalam eter; larut dalam larutan natrium klorida.

**L-Ramnosa P**  $C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$ ; BM 182,2; murni pereaksi.  
*Pemerian* Serbuk hablur, berwarna putih.  
*Suhu lebur* Lebih kurang  $96^\circ$ .

*Rotasi jenis* <1081> Lebih kurang  $+8^\circ$ ; lakukan penetapan menggunakan larutan dalam air 5% mengandung amonium hidroksida lebih kurang 0,05%.

**Resin guaiakum P** Resin yang diperoleh dari teras kayu tanaman *Guaiacum officinale L.* dan *Guaiacum sanctum L.*: berupa potongan mengkilat, berwarna cokelat kemerahan atau cokelat kehijauan.

**Resin penukar ion P** Suatu campuran yang kompak dari 4 bagian penukar kation asam sangat kuat dalam bentuk hidrogen (yang dibuat dengan cara sulfonasi kopolimer stiren-divinilbenzen mengandung 8% - 10% divinilbenzen) dengan 6 bagian penukar anion basa sangat kuat dalam bentuk hidroksil (yang dibuat dengan cara aminasi kopolimer stiren-divinilbenzen yang terklorometasi dengan trimetilamin, mengandung 3% - 5% divinilbenzen).

**Resorsinol P** Gunakan *Resorsinol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Resorsinol LP** Larutkan 1 g *resorsinol P* dalam *asam klorida P* hingga 100 ml.

**Resorsinol LP (A)** Pada 80 ml *asam klorida P* tambahkan 10 ml *resorsinol LP 2%* dan 0,25 ml *tembaga(II) sulfat LP 2,5%* dan encerkan dengan air hingga 100 ml. Siapkan larutan paling lama 4 jam sebelum digunakan.

*Wadah dan penyimpanan* Simpan pada suhu  $2^\circ - 8^\circ$  dan gunakan selama 1 minggu.

**Rhodamin B P** *Tetraetilrhodamin*;  $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ ; BM 479,01; [81-88-9].

*Pemerian* Hablur hijau atau serbuk ungu kemerahan.

*Kelarutan* Sangat mudah larut dalam air; menghasilkan larutan merah kebiruan dan berfluorosensi kuat jika diencerkan. Sangat mudah larut dalam etanol; sukar larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali. Larut dalam asam kuat, membentuk senyawa dengan kompleks antimoni berwarna merah muda yang larut dalam isopropil eter.

*Kejernihan larutan* Larutan (1 dalam 200) larut sempurna dan jernih.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 2 mg (0,2%); lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi* dengan memijarkan 1 g zat dengan 1 ml *asam sulfat P*.

**Riboflavin P** Gunakan *Riboflavin* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**S1A; S1AB; S1C, S1NS; S2; S3; S4; S5; S6; S7; S8; S9; S10; S11 P** Gunakan *Penyangga* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

**Sakarosa P** Gunakan *Sukrosa* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Salin LP Natrium klorida isotonik LP** Larutkan 9,0 g *natrium klorida P* dalam air hingga 1000 ml.

[*Catatan Salin LP bebas pirogen harus memenuhi persyaratan Uji Pirogen* <231>.]

**Salin pH 7,4 didapar fosfat** Larutkan 2,38 g *natrium fosfat dibasa dodekahidrat P*, 190 mg *kalium fosfat monobasa P* dan 8,0 g *natrium klorida P* dalam air secukupnya hingga 1000 ml. Jika perlu atur pH segera sebelum digunakan.

**Schweitzer, pereaksi** Gunakan *tembaga(II) oksida amonia LP*.

**Selenium P Se**; BA 78,96; [7782-49-2]; murni pereaksi.  
*Pemerian* Serbuk amorf merah tua atau serbuk hablur hitam kebiruan.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam larutan natrium hidroksida, dalam kalium hidroksida atau dalam sulfida.

**Selulosa P** Murni pereaksi.

**Serium(IV) amonium nitrat P**  $Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ ; BM 548,22; murni pereaksi.

**Serium(IV) amonium nitrat LP** Larutkan 6,25 g *serium(IV) amonium nitrat P* dalam 10 ml *asam nitrat 0,25 N*. Gunakan dalam 3 hari.

**Serium(IV) amonium sulfat P**  $Ce(SO_4)_2 \cdot 2(NH_4)_2SO_4 \cdot 2H_2O$ ; BM 632,55; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur, kuning sampai jingga kekuningan.

*Kelarutan* Larut lambat dalam air, lebih cepat larut jika mengandung asam mineral.

**Serium(III) nitrat P**  $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ ; BM 434,2; [10294-41-4]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk hablur tidak berwarna atau kuning pucat.

**Serium(III) nitrat LP** Larutkan 220 mg *serium(III) nitrat P* dalam 50 ml air, tambahkan 0,1 ml *asam nitrat P* dan 50 mg *hidroksilamin hidroklorida P* dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

**Serium(IV) sulfat P**  $Ce(SO_4)_2$ , dengan jumlah molekul air bervariasi; BM 332,24 (anhidrat); [13590-82-4]. Dapat juga mengandung sulfat dari unsur lantanida lain. Mengandung tidak kurang dari 80,0%  $Ce(SO_4)_2$ .

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, kuning sampai kuning jingga.

**Kelarutan** Praktis tidak larut dalam air dingin; lambat larut dalam asam mineral encer dingin, lebih cepat larut jika dipanaskan.

**Penetapan kadar** Timbang saksama lebih kurang 800 mg zat, masukkan ke dalam labu, tambahkan 25 ml air dan 3 ml *asam sulfat P* dan hangatkan sampai larut. Dinginkan dan tambahkan 60 ml campuran *asam fosfat P* dan air (1 dalam 20). Tambahkan 25 ml larutan *kaliun iodida P* (1 dalam 10), sumbat labu dan biarkan selama 15 menit. Alirkan *karbon dioksida P* ke dalam labu, lakukan titrasi terhadap iodum yang dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* menjelang titik akhir titrasi.

Tiap ml *natrium tiosulfat 0,1 N*  
setara dengan 33,22 mg  $Ce(SO_4)_2$ .

**Klorida** Tidak lebih dari 0,01%; lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan 1 g zat dalam campuran 5 ml *asam nitrat P* dan 4 ml air. Saring jika perlu dan encerkan dengan air hingga 20 ml. Ke dalam 10 ml larutan ini tambahkan 1 ml *perak nitrat LP*, biarkan selama 10 menit dan saring hingga jernih. Ke dalam 10 ml sisa larutan zat tambahkan 1 ml *perak nitrat LP*: terjadi sedikit kekeruhan yang tidak lebih dari larutan pembanding yang diperoleh dengan menambahkan 0,05 mg Cl ke dalam filtrat dari 10 ml pertama larutan zat.

**Logam berat** Panaskan 500 mg zat dalam campuran 10 ml air dan 0,5 ml *asam sulfat P* sampai larut sempurna. Dinginkan, encerkan dengan air hingga 50 ml dan alirkan gas *hidrogen sulfida P* melalui larutan ini hingga jenuh: terbentuk endapan putih atau tidak lebih gelap dari kuning pucat.

**Besi** Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan sebagai berikut: larutkan 100 mg zat dalam campuran 5 ml air dan 2 ml *asam klorida P*, jika perlu hangatkan dan dinginkan. Pindahkan ke dalam gelas ukur bersumbat kaca, encerkan dengan air hingga 25 ml dan tambahkan 5 ml *amonium tiosianat LP* dan 25 ml *eter P*. Kocok perlahan dan sempurna, biarkan memisah: warna merah muda dalam lapisan eter tidak lebih gelap dari larutan pembanding, yang diperlakukan sama dengan menambahkan 0,02 mg Fe.

**Setilpiridinium klorida P**  $C_{21}H_{38}ClN.H_2O$ ; BM 358,0; murni pereaksi.

**Pemerian** Serbuk, putih.

**Suhu lebur** <1021> Lebih kurang 81°.

**Setiltrimetilamonium bromida P** *setrimida*; *heksadesiltrimetilamonium bromida*;  $C_{19}H_{42}BrN$ ; BM 364,46; [57-09-0]. Untuk pengujian secara kromatografi gunakan dengan kadar 99,0%.

**Setrimida P** Gunakan *Setiltrimetilamonium bromida P*.

**Sianogen bromida P**  $BrCN$ ; BM 105,92.

**Pemerian** Hablur tidak berwarna. Menguap pada suhu ruang, uap sangat mengiritasi dan sangat beracun.

**Suhu lebur** Lebih kurang 52°.

**Kelarutan** Mudah larut dalam air dan dalam etanol.

**Kelarutan dalam pelarut** Secara terpisah, larutkan berturut-turut 1 g zat dalam 10 ml air dan dalam 10 ml *etanol P*: larutan tidak berwarna.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat di tempat dingin.

**Sianogen bromida LP** Tambahkan tetes demi tetes *amonium tiosianat 0,1 M* dengan pendinginan pada *air brom LP* sampai warna hilang. Larutan harus dibuat segar.

[Peringatan Larutan sangat beracun.]

**Sikloheksan P**  $C_6H_{12}$ ; BM 84,16; murni pereaksi.

**Silika gel oktadesilsilanisasi untuk kromatografi P** Murni pereaksi.

**Silika gel P**

**Pemerian**  $SiO_2$  terhidrat sebagian, amorf, terdapat dalam bentuk granul seperti kaca dengan berbagai ukuran. Jika digunakan sebagai pengering, seringkali disalut dengan senyawa yang berubah warna jika kapasitas penyerapan air telah habis. Bahan berwarna tersebut dapat dikembalikan (dapat menyerap air kembali) dengan memanaskannya pada suhu 110° hingga gel berubah menjadi warna semula.

[Catatan Prosedur berikut dan batasnya ditetapkan hanya untuk silika gel P kualitas pengering.]

**Susut pemijaran** Tidak lebih dari 6%; lakukan pemijaran menggunakan 2 g zat yang ditimbang saksama dan pijarkan pada suhu  $950 \pm 50^\circ$  sampai bobot tetap.

**Penyerapan air** Tempatkan lebih kurang 10 g zat dalam botol timbang yang telah ditara dan timbang. Kemudian letakkan botol, tanpa tutup selama 24 jam dalam wadah dengan kelembaban yang dipertahankan pada kelembaban relatif 80%, dibuat seimbang dengan *asam sulfat P* yang memiliki bobot jenis 1,19. Timbang kembali: kenaikan bobot tidak kurang dari 31,0% dari bobot zat.

**Silikon karbida P**  $SiC$ ; BM 40,10.

**Pemerian** Kepingan kecil bersih, untuk meningkatkan pembentukan gelembung udara.

**Sineol P** *Eukaliptol*; *1,8-Epoksi-p-metana*;  $C_{10}H_{18}O$ ; BM 154,3; [470-82-6]; murni pereaksi.

Digunakan untuk penetapan *o*-kresol.

**Pemerian** Cairan tidak berwarna.

**Titik didih** Lebih kurang 176°.

**Bobot jenis** Antara 0,992 dan 0,927.

**Indeks bias** Antara 1,465 dan 1,459.

**L-Sistin P**  $HOOC(NH_2CHCH_2S-SCH_2CH(NH_2)COOH$ ; BM 240,30; [56-89-3].

**Pemerian** Serbuk hablur, putih.

**Kelarutan** Sangat sukar larut dalam air; larut dalam asam mineral encer dan dalam larutan alkali hidroksida; tidak larut dalam etanol dan dalam pelarut organik lain.

**Rotasi jenis <1081>** Antara  $-215^{\circ}$  dan  $-225^{\circ}$ ; lakukan penetapan menggunakan larutan zat (yang telah dikeringkan di atas *silika gel P* selama 4 jam) 2% b/v dalam larutan *asam klorida P* (1 dalam 10) pada suhu  $20^{\circ}$ .

**Susut pengeringan <1121>** Tidak lebih dari 0,2%; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam.

**Sisa pemijaran** Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Sorbitol P** Gunakan *Sorbitol* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Striknin sulfat P** ( $C_{21}H_{22}N_2O_2$ ) $_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$ ; BM 856,98.

**Pemerian** Hablur putih atau tidak berwarna, atau serbuk hablur putih. Larutannya memutar bidang polarisasi ke kiri.

**Kelarutan** 1 g zat larut dalam lebih kurang 35 ml air; dalam 85 ml *etanol P* dan dalam lebih kurang 220 ml *kloroform P*; tidak larut dalam *eter P*.

**Kerjernihan** Larutan 500 mg zat dalam 25 ml air, melarut sempurna; jernih dan tidak berwarna.

**Sisa pemijaran** Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan seperti tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Brusin** Pada 100 mg zat tambahkan 1 ml larutan *asam nitrat P* (1 dalam 2); terjadi warna kuning tetapi tidak warna merah atau cokelat kemerahan.

**Stronsium nitrat P**  $Sr(NO_3)_2$ ; BM 211,63; [10042-76-9]; murni pereaksi.

**Sukrosa P** Gunakan *Sukrosa* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Sulfanilamida P**  $C_6H_8N_2O_2S$ ; BM 172,21; [63-74-1].

**Sulfanilat- $\alpha$ -naftilamin LP** Gunakan *sulfanilat-1-naftilamin LP*.

**Sulfanilat-1-naftilamin LP** Larutkan 500 mg *asam sulfanilat P* dalam 150 ml *asam asetat P*. Larutkan 100 mg *1-naftilamin hidroklorida P* dalam 150 ml *asam asetat P* dan campur kedua larutan tersebut; warna merah muda akan berubah jika ditambahkan zink.

**Sulfadiazin P** Gunakan *Sulfadiazin* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Tabung detektor amonia** Tabung kaca bertutup yang dibuat agar dapat dilalui gas dan dilengkapi penyaring serapan dan bahan penyangga untuk indikator biru bromofenol.

[Catatan Rentang pengukuran pada 5 - 70 bpj.]

**Tabung detektor belerang dioksida** Tabung kaca bertutup yang dibuat agar dapat dilalui gas dan dilengkapi penyaring serapan dan bahan penyangga untuk indikator pasta kanji-iodida

[Catatan Rentang pengukuran pada 1 - 25 bpj.]

**Tabung detektor hidrogen sulfida** Tabung kaca bertutup yang dibuat agar dapat dilalui gas dan dilengkapi penyaring serapan dan bahan penyangga untuk indikator yang mengandung garam timbal yang sesuai.

[Catatan Rentang pengukuran pada 1 - 20 bpj.]

**Tabung detektor karbon monoksida** Tabung kaca bertutup yang dibuat agar dapat dilalui gas dan dilengkapi penyaring serapan dan bahan penyangga untuk indikator iodium pentoksida, selenium oksida dan uap asam sulfat.

[Catatan Rentang pengukuran pada 5 - 150 bpj.]

**Tabung detektor nitrogen oksida-nitrogen dioksida** Tabung kaca bertutup yang dibuat agar dapat dilalui gas dan dilengkapi penyaring serapan dan bahan penyangga untuk lapisan oksidasi dan indikator difenil benzidin.

[Catatan Rentang pengukuran pada 0,5 - 10 bpj.]

**Tabung detektor uap air** Tabung kaca bertutup yang dibuat agar dapat dilalui gas dan dilengkapi penyaring serapan dan bahan penyangga untuk indikator yang mengandung suspensi selenium dalam asam sulfat.

[Catatan Rentang pengukuran pada 5 - 250 mg per m<sup>3</sup>.]

**Talk P** Gunakan *Talk* seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Tanah fuller untuk kromatografi P** Sangat halus dan agak kasar.

**Pemerian** Serbuk atau granula, abu-abu atau putih keabu-abuan, terutama mengandung aluminium-magnesium silikat hidrat.

**Derajat halus serbuk** Seperti tertera pada *Pengayak dan Derajat Halus Serbuk <1141>*.

**Zat larut** Larutkan 20 g zat dalam 50 ml air dingin dan saring; residu penguapan dari filtrat tidak lebih dari 60 mg (0,3%). Larutkan lagi 20 g zat dalam 50 ml *etanol P* dingin dan saring; residu penguapan dari filtrat tidak lebih dari 14 mg (0,07%).

**Susut pengeringan <1121>** Antara 7,0% dan 10,0%; lakukan pengeringan pada suhu  $105^{\circ}$  selama 6 jam.

[Catatan Jika perlu kadar air diatur dengan cara mengeringkan dalam hampa udara pada suhu ruang, kembalikan air yang dipelukan dan seimbangkan dengan pengocokan selama 2 jam.]

**Tanah silika untuk kromatografi P**

Untuk *Kromatografi gas*, gunakan mutu yang disiapkan khusus dengan memenuhi pemerian umum sebagai berikut: Tanah silika yang dimurnikan dengan ukuran mesh yang sesuai, yang telah dicuci dengan asam dan/atau basa, disilanisasi atau tanpa disilanisasi.

Untuk *Kromatografi partisi kolom*, sangat penting bahwa bahan bebas dari senyawa pengganggu. Jika senyawa pengganggu diketahui atau diperkirakan ada, murnikan bahan sebagai berikut: Letakkan segumpal wol kaca pada dasar kolom kromatografi dengan diameter 100 mm atau lebih besar dan tambahkan *Tanah silika*

yang dimurnikan setinggi 5 kali diameter kolom. Tambahkan asam klorida P setara sepertiga volume tanah silika dan biarkan asam memperlakoli kolom dan lanjutkan pencucian dengan metanol P hingga cucian akhir netral terhadap kertas lakmus basah. Keluarkan isi kolom yang telah dicuci ke dalam cawan dangkal, panaskan di atas tangas uap untuk menghilangkan sisa metanol dan keringkan pada suhu 105° hingga bahan menjadi serbuk dan bebas dari sisa metanol.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik, dalam bentuk bahan kering.

**Tanin P** Gunakan asam tanat P.

**Tembaga, lembaran P** Cu; BA 63,55; murni pereaksi.

**Tembaga karbonat P**  $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , murni pereaksi.

**Tembaga(II) iodida alkali LP** Larutkan 7,5 g tembaga(II) sulfat P ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) dalam lebih kurang 100 ml air. Dalam wadah lain larutkan 25 g natrium karbonat anhidrat P, 20 g natrium bikarbonat P dan 25 g kalium natrium tartrat P dalam lebih kurang 600 ml air. Dengan pengocokan yang tetap, tambahkan larutan tembaga(II) sulfat P ke dasar larutan alkali tartrat melalui corong yang ujungnya mengenai dasar wadah. Tambahkan 1,5 g kalium iodida P, 20 g natrium sulfat anhidrat P, 50 - 150 ml kalium iodat 0,02 M dan air hingga 1000 ml.

**Tembaga(II) oksida amoniakal LP** *Pereaksi Schweitzer* Larutkan 10 g tembaga(II) sulfat P dalam 100 ml air, tambahkan secukupnya larutan natrium hidroksida P (1 dalam 5) untuk mengendapkan tembaga hidroksida, kumpulkan dengan penyaringan dan cuci dengan air dingin hingga bebas sulfat. Larutkan endapan, endapan harus selalu basah selama perlakuan, jika perlu tambahkan sedikit amonia LP agar larutan sempurna.

**Tembaga(II) oksida amoniakal LP (A)** Triturat 500 mg tembaga karbonat P dengan 10 ml air, kemudian tambahkan 10 ml amonium hidroksida P secara bertahap.

**Tembaga(II) sitrat alkali LP** Dengan pemanasan, larutkan 173 g natrium sitrat dihidrat P dan 117 g natrium karbonat monohidrat P dalam lebih kurang 700 ml air, jika perlu saring melalui kertas saring untuk memperoleh larutan jernih. Dalam wadah terpisah larutkan 17,3 g tembaga(II) sulfat P dalam lebih kurang 100 ml air dan tambahkan perlahan-lahan ke dalam larutan pertama, sambil diaduk. Dinginkan, tambahkan air hingga 1000 ml dan campur.

**Tembaga(II) sulfat P**  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; BM 249,69; [7758-99-8]; murni pereaksi.

**Tembaga(II) sulfat LP** Larutkan 12,5 g tembaga(II) sulfat P dalam air hingga 100 ml.

**Tembaga(II) sulfat anhidrat P**  $\text{CuSO}_4$ ; BM 159,61; [7758-98-7].

*Pemerian* Serbuk putih atau keabuan, bebas dari sedikit warna biru. Penambahan sedikit air, mengakibatkan perubahan warna menjadi biru.

*Kelarutan* Larut dalam air.

*Klorida* Tidak lebih dari 20 bpj; lakukan penetapan seperti tertera pada Uji *Pereaksi*, menggunakan 1 g zat.

*Senyawa tak mengendap dengan hidrogen sulfida* Berat residu tidak lebih dari 6 mg (0,15%); lakukan penetapan seperti pada tembaga(II) asetat.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup kedap.

**Tembaga(II) tartrat alkali LP** *Larutan Fehling*.

*Larutan tembaga (A)* Larutkan perlahan-lahan 34,66 g hablur tembaga yang tidak mengembang jika menyerap lembab dalam air hingga 500 ml. Simpan larutan dalam wadah kecil tertutup kedap.

*Larutan alkali tartrat (B)* Larutkan 173 g hablur kalium natrium tartrat P dan 50 g natrium hidroksida P dalam air hingga 500 ml. Simpan larutan dalam wadah tahan alkali.

*Penggunaan* Campurkan larutan A dan larutan B sejumlah volume yang sama pada saat akan digunakan.

**Tetrabutylamonium hidrogen sulfat P**  $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NSO}_4$ ; [32503-27-8]; BM 339,54; murni pereaksi. Mengandung tidak kurang dari 97,0%  $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NSO}_4$ .

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Larut dalam etanol membentuk larutan tidak berwarna yang agak berkabut.

*Jarak lebur* <1021> Antara 169° dan 173°.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 170 mg zat, larutkan dalam 40 ml air. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N LV, tetapkan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 33,95 mg  $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$

**Tetrabutylamonium hidroksida P** *Tetrabutylamonium hidroksida* 1,0 M dalam metanol P.

**Tetrabutylamonium iodida P**  $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NI}$ ; [311-28-4]; BM 369,37. Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NI}$ .

*Pemerian* Keping hablur, putih mengkilat.

*Kelarutan* Larut dalam etanol dan dalam eter; sukar larut dalam air.

*Jarak lebur* <1021> Antara 146° dan 147°.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 370 mg zat, larutkan dalam 60 ml aseton P, aduk kuat secara mekanik, tambahkan 10 ml larutan asam sulfat P 16%, titrasi dengan perak nitrat 0,1 N LV. Tetapkan titik akhir secara potensiometrik menggunakan elektroda



kaca-perak dan tambahkan titran setiap kali 0,1 ml mendekati titik akhir. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N  
setara dengan 36,94 mg (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)<sub>4</sub>NI

**Tetradekana P** C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>; BM 198,39. Mengandung tidak kurang dari 98 % C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>.

Pemerian Cairan jernih, tidak berwarna.

Jarak lebur <1021> Metode II antara 4° dan 8° dengan jarak 2°.

Indeks bias <1001> Antara 1,4280 dan 1,4300; lakukan penetapan pada suhu 20°.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara kromatografi gas seperti tertera pada kromatografi <931>. Kromatograf dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom baja tahan karat 2,4 m x 3 mm berisi fase diam G16 pada partikel penyangga S1, suhu kolom 250°, suhu injektor 200° dan suhu detektor 280°. Gunakan helium P sebagai gas pembawa dengan laju alir 27,5 ml per menit.

**Tetraetilamonium perklorat P** (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>NClO<sub>4</sub>; BM 229,70; murni pereaksi.

Pemerian Hablur, putih.

Kelarutan Larut dalam air.

**Tetrahidrofuran P** C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O; BM 72,1; [109-99-9]; murni pereaksi.

**Tetrametilamonium hidroksida P** (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH; BM 91,15. Terdapat sebagian larutan dalam air dengan kadar lebih kurang 10% atau lebih kurang 25%, atau sebagai hablur pentahidrat.

Pemerian Cairan jernih, tidak berwarna; berbau kuat seperti amonia. Tetrametilamonium hidroksida merupakan basa yang lebih kuat dari amonia dan dengan cepat menyerap karbon dioksida dari udara.

Sisa penguapan Tidak lebih dari 0,02%; lakukan penetapan sebagai berikut: Uapkan 5 ml zat di atas tangas uap dan keringkan pada suhu 105° selama 1 jam.

Amonia dan amina lain Timbang saksama sejumlah larutan zat yang setara dengan lebih kurang 300 mg (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH dalam botol timbang bentuk rendah yang telah ditara dengan 5 ml air. Tambahkan asam klorida 1 N sedikit berlebih (lebih kurang 4 ml) uapkan di atas tangas uap sampai kering dan keringkan pada suhu 105° selama 2 jam; bobot tetrametilamonium klorida yang diperoleh dikalikan 0,8317 menunjukkan jumlah dalam mg (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH dalam zat yang digunakan dan dalam batas 0,2% lebih tinggi atau lebih rendah dari hasil yang diperoleh pada Penetapan kadar.

Penetapan kadar Timbang saksama labu bersumbat kaca yang berisi lebih kurang 15 ml air. Tambahkan sejumlah zat setara dengan 200 mg (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH dan timbang kembali. Tambahkan merah metil LP dan titrasi larutan dengan asam klorida 0,1N LV.

Tiap ml asam klorida 0,1 N  
setara dengan 9,115 mg (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat

**Tetrametilamonium hidroksida LP** Gunakan larutan zat dalam air yang tiap 100 ml mengandung setara dengan 10 g tetrametilamonium hidroksida P anhidrat.

**Tetrametilamonium nitrat P** (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NNO<sub>3</sub>; BM 136,15.

Pemerian Hablur, putih.

Kelarutan Mudah larut dalam air.

**N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin P** Tetrametiletan-1,2-diamin; (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>.N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; BM 116,2; murni pereaksi.

Pemerian Cairan tidak berwarna.

Titik didih Lebih kurang 121°.

Bobot per ml Lebih kurang 780 mg.

**Tiamin hidroklorida P** Gunakan Tiamin Hidroklorida seperti tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**Timah P** Sn; BA 118,71; [7440-31-5]; murni pereaksi.

**Timah(II) klorida P**, SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; BM 225,65; [10025-69-1]; murni pereaksi.

**Timah(II) klorida LP** Panaskan 20 g timah P dengan 85 ml asam klorida P sampai tidak ada lagi hidrogen yang diubah.

**Timah(II) klorida asam LP** Larutkan 8 g timah(II) klorida P dalam 500 ml asam klorida P.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah kaca dan gunakan dalam 3 bulan.

**Timah(II) klorida pekat asam LP** Larutkan 40 g timah(II) klorida P dalam 100 ml asam klorida P.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah kaca dan gunakan dalam 3 bulan.

**Timbal dioksida P** Gunakan timbal(IV) oksida P.

**Timbal monoksida P** PbO; BM 223,20; [1317-36-8] Mengandung tidak kurang dari 98% PbO.

Pemerian Serbuk berat, kekuningan atau kuning kemerahan.

Kelarutan Tidak larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam asam asetat, dalam asam nitrat encer dan dalam larutan hangat alkali hidroksida.

Zat tak larut dalam asam asetat Tidak lebih dari 10 mg (0,5%). Larutkan 2 g zat dalam 30 ml larutan asam asetat glasial P (1 dalam 2), dididihkan perlahan-lahan selama 5 menit, saring, cuci residu dengan asam asetat encer P dan keringkan pada suhu 105° selama 2 jam.

Zat tak mengendap dengan hidrogen sulfida Tidak lebih dari 5 mg (0,5%). Sempurnakan endapan timbal dari filtrat yang diperoleh pada uji terhadap Zat tak larut dalam asam asetat dengan melewati hidrogen sulfida P ke dalamnya, saring dan cuci endapan dengan 20 ml

air. Tambahkan 5 tetes *asam sulfat P* pada tengah bagian campuran filtrat dan bilasan, uapkan sampai kering dan pijarkan pada suhu  $800^{\circ}\pm 25^{\circ}$  selama 15 menit.

*Zat menguap* Tidak lebih dari 2% dari bobot zat. Timbang saksama lebih kurang 5 g zat dan panaskan kuat-kuat dalam krus porselen bertutup.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, pijarkan dalam tanur pada suhu  $600^{\circ}\pm 50^{\circ}$ , larutkan dengan 10 ml air hangat dan 1 ml *asam asetat glasial P*. Encerkan dengan 75 ml air, panaskan sampai mendidih, tambahkan 50,0 ml *kalium dikromat 0,1 N LV* dan panaskan selama 2 - 3 menit. Dinginkan, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml dengan bantuan air, encerkan dengan air sampai tanda, campur dan diamkan. Ambil 100,0 ml cairan jernih dan masukkan dalam labu bersumbat kaca. Tambahkan 10 ml *asam sulfat encer P* dan 1 g *kalium iodida P*, tutup, aduk perlahan dan biarkan selama 10 menit. Titrasi iodum bebas dengan *kalium dikromat 0,1 N LV*, kemudian kelebihan dikromat dititrasi dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* pada saat mendekati titik akhir.

*Tiap ml kalium dikromat 0,1 N setara dengan 7,440 mg PbO*

**Timbal(II) asetat P**  $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; BM 379,33; [6080-56-4]; murni pereaksi.

**Timbal(II) asetat LP** Larutkan 9,5 g hablur jernih dan transparan *timbal(II) asetat P* dalam air yang baru dididihkan hingga 100 ml.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam botol bersumbat yang baik.

**Timbal(II) nitrat P**  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ; BM 331,2; [10099-74-8]; murni pereaksi.

**Timbal(IV) oksida P** *Timbal dioksida P*;  $\text{PbO}_2$ ; BM 239,2; murni pereaksi.

**Timbal(II) perklorat P**  $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; BM 460,15; murni pereaksi.

**Timbal(II) subasetat LP** Larutkan 40,0 g *timbal(II) asetat P* dalam 90 ml air bebas karbon dioksida *P*. Atur pH 7,5 dengan *natrium hidroksida 10 M*, sentrifus dan gunakan beningan. Mengandung tidak kurang dari 16,7% (b/b) dan tidak lebih dari 17,4% (b/b) Pb dalam bentuk  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_{10}\text{Pb}_3$ .

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik.

**Timbal(II) subasetat LP (A)** Triturat 14 g *timbal monoksida P* dengan 10 ml air hingga terbentuk pasta halus, pindahkan campuran ke dalam botol, dengan 10 ml air untuk membilas. Larutkan 22 g *timbal(II) asetat P* dalam 70 ml air, tambahkan larutan ini ke dalam campuran *timbal(II) oksida*. Kocok kuat selama 5 menit, kemudian simpan, sambil sering dikocok, selama 7 hari. Saring dan tambahkan air yang baru dididihkan melalui penyaring hingga 100 ml.

**Timolfalein P** Gunakan *Timolfalein P* seperti tertera pada *Indikator dan Kertas Indikator*.

**Timolfalein LP** Larutkan 100 mg *timolfalein P* dalam 100 ml *etanol P*, saring jika perlu.

**Tingtur guaiakum LP** Maserasi 20 g *resin guaiakum P* dengan 100 g *etanol P* 80%, dalam labu bersumbat selama 24 jam, sambil sesekali dikocok, saring.

**Tioasetamida P**  $\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}$ ; BM 75,13; [62-55-5]; murni pereaksi.

**Tioasetamida LP** Larutkan 4 g *Tioasetamida P* dalam 100 ml air.

**Tiourea P**  $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$ ; BM 76,12 ; [62-56-6]; murni pereaksi.

**Titan(III) klorida P** Gunakan *titan triklorida P*.

**Titan triklorida P** *Titan(III) klorida P*;  $\text{TiCl}_3$ ; BM 154,23; [7705-07-9].

*Pemerian* Serbuk, hitam; higroskopik, tidak stabil di udara.

*Kelarutan* Larut dalam air, larutan membebaskan endapan asam titanat oleh pengaruh udara. Umumnya dapat diperoleh sebagai larutan 15% - 20% dalam air berwarna biru lembayung tua.

*Wadah dan penyimpanan* Simpan larutan dalam botol bersumbat kaca, tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Titanium tetraklorida**  $\text{TiCl}_4$ ; BM 189,68; [7550-45-0]. Mengandung tidak kurang dari 99,5%  $\text{TiCl}_4$ .

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna, berasap di udara. [Perhatian Bereaksi kuat dengan air].

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 750 mg zat, masukkan ke dalam buret Smith berisi 100 ml *asam sulfat 2 N*. Tuang larutan melalui kolom reduksi zink-raksa ke dalam 50 ml *besi(III) amonium sulfat 0,1 N LV*. Eluasi dengan 100 ml *asam sulfat 2 N* dan 100 ml air. Tambahkan 10 ml *asam fosfat P* dan titrasi dengan *kalium permanganat 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml kalium permanganat 0,1 N setara dengan 18,97 TiCl<sub>4</sub>*

**o-Tolidin P** 4,4'-Diamino-3,3'-dimetilbifenil;  $(\text{NH}_2)(\text{CH}_3)\text{C}_6\text{H}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$ ; BM 212,29; [119-93-7].

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, putih hingga kemerahan.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; larut dalam etanol, dalam eter dan dalam asam encer.

[Perhatian Hindari kontak dengan o-tolidin dan campuran yang mengandung o-tolidin dan lakukan semua pengujian di dalam lemari asam.]

*Jarak lebur* <1021> Antara  $129^{\circ}$  dan  $131^{\circ}$ .

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik, terlindung cahaya.

**p-Tolualdehida P**  $C_8H_8O$ ; BM 120,15; [104-87-0]. Mengandung tidak kurang dari 98%  $C_8H_8O$ .

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna hingga kuning.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,544 dan 1,546; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom baja tahan karat 1,8 m x 3 mm berisi bahan pengisi 5% fase diam *G4* pada partikel penyangga *SI*. Suhu detektor dan kolom lebih kurang 125°, suhu injektor lebih kurang 205°. Gunakan larutan zat 5% dalam *karbon disulfida P* dan *nitrogen P* sebagai gas pembawa dengan laju alir lebih kurang 12 ml per menit.

**Toluen P** *Toluol*;  $C_6H_5CH_3$ ; BM 92,14; [108-88-3]; murni pereaksi.

**p-Toluenasulfonil-L-arginina metil ester hidroklorida P**.  $C_{14}H_{22}N_4O_4S.HCl$ ; BM 378,88; [1784-03-8]. Lakukan kesesuaian seperti tertera pada uji *Tripsin* dalam *Kimotripsin* seperti yang tertera pada monografi Farmakope Indonesia V.

**o-Toluidina P** (*2-Aminotoluen*; *2-Metilnilin*);  $C_6H_4(CH_3)(NH_2)$ -1,2; BM 107,15; [95-53-4].

*Pemerian* Cairan berwarna kuning muda, menjadi coklat kemerahan jika terpapar udara dan cahaya.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; larut dalam etanol, dalam eter dan dalam asam encer.

*Bobot jenis* <981> 1,008; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Jarak didih* Antara 200° dan 202°; lakukan penetapan seperti yang tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya.

**Torium nitrat P**  $Th(NO_3)_4.4H_2O$ ; BM 552,12; [13823-29-5]; murni pereaksi.

**Torium nitrat LP** Larutkan 1 g *torium nitrat P* dalam air hingga 100 ml, saring jika perlu.

**L-Tosilaminofenetil klorometil keton P** *Tosilfenilalanin klorometana*;  $C_{17}H_{18}ClNO_3S$ ; BM 351,9; murni pereaksi.

*Pemerian* Hablur padat, putih.

*Suhu lebur* Lebih kurang 105°.

*Rotasi jenis* Lebih kurang -87°; lakukan penetapan menggunakan larutan 1% dalam *etanol P*.

**Trietanolamina P** Gunakan *Trolamina P*.

**Trietilamin P**  $(C_2H_5)_3N$ ; BM 101,19; [121-44-8]; Mengandung tidak kurang dari 99,5%.

*Pemerian* Cairan tidak berwarna

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol, dengan eter dan dengan air dingin.

**Triketohidrinden hidrat P** *Ninhidrin P*;  $C_9H_4O_3.H_2O$ ; BM 178,14.

*Pemerian* Hablur atau serbuk hablur, putih sampai putih kecoklatan.

*Kelarutan* Larut dalam air dan dalam etanol; sukar larut dalam eter dan dalam kloroform. Jika dipanaskan pada suhu lebih dari 100°: warna berubah menjadi merah.

*Jarak lebur* <1021> Antara 240° dan 245° disertai peruraian; lakukan penetapan di atas tangas yang sudah dipanaskan hingga suhu 220°.

*Sisa pemijaran* Dapat diabaikan; lakukan penetapan seperti yang tertera pada *Uji Pereaksi*, menggunakan 100 mg zat.

*Kepekaan* Larutkan 10 mg *asam amino asetat P* dalam 25 ml air. Pada 1 ml larutan ini tambahkan 50 mg *natrium asetat P* yang dilarutkan dalam 2 ml air, kemudian 0,2 ml larutan 5 mg zat dalam 1 ml air. Didihkan campuran selama 1 hingga 2 menit: terjadi warna lembayung dan menjadi intensif setelah dibiarkan beberapa menit.

*Wadah dan penyimpanan* Dalam wadah terlindung dari cahaya.

**Triketohidrinden hidrat LP** *Ninhidrin LP* Larutkan 200 mg *triketohidrinden hidrat P* dalam air hingga 10 ml. Larutan dibuat segar.

**Trikloroetana P** Gunakan *metil kloroform P*.

**Trikloroetilen P**  $ClCH=CCl_2$ ; BM 131,4; pereaksi teknis.

*Pemerian* Cairan tidak berwarna; bau seperti kloroform.

*Bobot per ml* Lebih kurang 1,46 g.

**n-Trikosan P**  $C_{23}H_{48}$ ; BM 324,63; [638-67-5].

*Pemerian* Struktur seperti hablur, massa hampir tembus cahaya, tidak berwarna atau putih, rasa agak seperti lemak.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air dan dalam etanol; larut dalam kloroform, dalam eter, dalam minyak menguap dan dalam minyak lemak panas; sukar larut dalam etanol mutlak.

*Jarak lebur* <1021> Antara 47° dan 49°.

*Titik didih* Lebih kurang 380°.

**Trimetilklorosilan P** Gunakan *klorometilsilana P*.

**2,2,4-Trimetilpentan P** *Isooktan P*;  $C_8H_{18}$ ; BM 114,23; [540-84-1]; murni pereaksi.

**N-(Trimetilsilil)-imidazol P**  $C_6H_{12}N_2Si$ ; BM 140,26; [18156-74-6].

*Pemerian* Cairan jernih, tidak berwarna sampai kuning muda.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,4744 dan 1,4764; lakukan penetapan pada suhu 20°.

**Trinatrium sitrat dihidrat P** *Natrium sitrat dihidrat; asam 2-hidroksi-1,2,3-propantri karboksilat; Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O; BM 294,10; [6132-04-3]; murni pereaksi.*

**Trinitrofenol P** *Gunakan asam pikrat P.*

**Trinitrofenol LP** *Asam pikrat LP; Larutkan sejumlah zat setara dengan 1 g trinitrofenol P anhidrat dalam 100 ml air panas. Dinginkan larutan, saring jika perlu.*

**Trioktilfosfina oksida P** C<sub>24</sub>H<sub>51</sub>PO; BM 386,64; [78-50-2]

*Pemerian* Serbuk hablur, putih.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam pelarut organik.

*Jarak lebur* <1021> Antara 54° dan 56°.

**L-Triptofan P** C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; BM 204,23; [73-22-3]. Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

*Pemerian* Serbuk, putih atau sedikit kuning.

*Kelarutan* 1 g larut dalam lebih kurang 100 ml air; sukar larut dalam etanol; larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Rotasi jenis* <1081> Antara -30,0° dan -33,0°; lakukan penetapan pada larutan yang mengandung 1,0 g zat yang telah dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam dalam 100 ml.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 0,3%; lakukan pengeringan pada suhu 105 selama 3 jam.

*Sisa pemijaran* Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan seperti yang tertera pada *Uji Pereaksi*.

*Tirosin* Encerkan 100 mg zat dalam 3 ml *asam sulfat encer P*, tambahkan 10 ml *raksa(II) sulfat LP*, dan panaskan di atas tangas uap selama 10 menit. Saring, cuci dengan 5 ml *raksa(II) sulfat LP* dan tambahkan ke dalam kumpulan filtrat 0,5 ml larutan *natrium nitrit P* (1 dalam 20); tidak terjadi warna merah selama 15 menit.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 300 mg zat, larutkan dalam campuran 3 ml *asam format P* dan 50 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 2 tetes *kristal violet LP*, dan titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* hingga titik akhir berwarna hijau.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan 20,42 mg C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*

**Tris(hidroksimetil)aminometan P**; [77-86-1] murni pereaksi. *Gunakan trometamin P.*

**Tris(hidroksimetil)metilamin P** *Tris (hidroksimetil)-aminometana P; trometamol; (C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>); BM 121,1; [77-86-1]; murni pereaksi.*

**Trometamina P** *Tris(hidroksimetil)aminometan P; THAM P; 2-amino-2-(hidroksimetil)-1,3-propandiol; C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>; BM 121,14; murni pereaksi.*

**Ungu bromokresol P** *Gunakan Ungu bromokresol P seperti yang tertera pada Indikator dan Kertas Indikator.*

**Ungu bromokresol LP** *Larutkan 250 mg ungu bromokresol P dalam 20 ml natrium hidroksida 0,05 N, encerkan dengan air hingga 250 ml.*

**Ungu metil LP** *Gunakan merah metil-biru metilen LP.*

**Uranil asetat P** *Uranium asetat; UO<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O; BM 424,15; [541-09-3]; murni pereaksi.*

**Urasil P** C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; BM 112,09; [66-22-8].

*Pemerian* Serbuk hablur putih hingga krem.

*Kelarutan* 1 g zat larut dalam 500 ml air; sukar larut dalam etanol; larut dalam larutan ammonium hidroksida dan dalam larutan natrium hidroksida. Larutan tidak membentuk endapan dengan penambahan pengendap alkaloid umum.

*Suhu lebur* <1021> Di atas suhu 300°.

*Sisa pemijaran* Dapat diabaikan; lakukan penetapan menggunakan 100 mg zat.

*Susut pengeringan* Tidak lebih dari 2%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.

**Urea P** NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>; BM 60,06; [57-13-6]; murni pereaksi.

**Uridin P** *1-β-D-Ribofuranosilurasil P; C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>; BM 244,2; [58-96-8]; murni pereaksi.*

*Pemerian* Serbuk putih.

*Suhu lebur* <1021> Antara 165°

**Valser, pereaksi** *Gunakan Raksa(II) iodida LP.*

**Vanadium pentoksida P** V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; BM 181,88; [1314-62-1]. Mengandung tidak kurang dari 99,5% V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

*Pemerian* Serbuk halus, kuning sampai kuning jingga.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; larut dalam asam pekat dan dalam basa; tidak larut dalam etanol.

*Penetapan kadar* Timbang saksama lebih kurang 400 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 500 ml, tambahkan 150 ml air dan 30 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 2). Didihkan larutan di atas lempeng pemanas selama 5 menit, tambahkan 50 ml air dan didihkan hingga larutan berwarna kuning. Pindahkan lempeng pemanas dan labu ke dalam lemari asam yang berventilasi baik dan alirkan gas *belerang dioksida P* pada larutan selama 10 menit atau hingga larutan jernih: berwarna biru cerah. Bilas pipa pengalir gas yang dimasukkan dalam labu dengan sedikit air, kemudian alirkan gas *karbon dioksida P* ke dalam larutan selama 30 menit sambil dididihkan hati-hati. Dinginkan hingga lebih kurang 80° dan titrasi dengan *kalium permanganat 0,1 N LV* hingga titik akhir berwarna kuning jingga. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml kalium permanganat 0,1 N setara dengan 9,095 mg V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>*

**Vanilin P** 4-hidroksi-3-asam metoksibenzoik;  $C_8H_8O_3$ ; BM 152,2; murni pereaksi.

**Xilena P**  $C_8H_{10}$ ; BM 106,17; [1330-20-7]; murni pereaksi.

**o-Xilena P**  $C_8H_{10}$ ; BM 106,17; [95-47-6]. Mengandung tidak kurang dari 95%  $C_8H_{10}$ .

*Pemerian Cairan jernih mudah terbakar, tidak berwarna.*

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; dapat bercampur dengan etanol dan dengan eter.

*Indeks bias* <1001> Antara 1,5040 dan 1,5060; lakukan penetapan pada suhu 20°.

*Penetapan kadar* Lakukan *Kromatografi cair gas* seperti yang tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair-gas dilengkapi dengan kolom baja tahan karat 1,8 m x 3 mm berisi bahan pengisi *silikat ammonium hidrat* 1,75% ditambah *diisodisilfatat* 5,0% pada bahan penyangga *Sl*. Gunakan *helium P* sebagai gas pembawa dengan kecepatan 27,5 ml per menit. Pertahankan suhu detektor, injektor dan kolom berturut-turut pada lebih kurang 280°, 180° dan 80°. Gunakan detektor ionisasi nyala.

**Xilosa P**  $C_5H_{10}O_5$ ; BM 150,13; [58-86-6]; murni pereaksi.

**Zink P** Zn; BA 65,39; [7440-66-6]; murni pereaksi.

**Zink aktif P** Masukkan sejumlah *zink P* dalam bentuk butiran, pelet atau silinder ke dalam larutan 50 µg *asam kloroplatinat P* per ml. Diamkan selama 10 menit, tiriskan, cuci dan keringkan segera.

*Arsen* <321> *Metode III* Pada 5 g tambahkan 15 ml *asam klorida P* dan 25 ml air. Tambahkan 0,1 ml larutan *timah(III) klorida AsT*, 5 ml *kaliun iodida 0,1M*; tidak terjadi warna pada kertas *raksa(II)bromida P*.

**Zink butiran P** *Zink granul P*; Zn; BA 65,38; murni pereaksi.

**Zink granul P** Gunakan *zink butiran P*.

**Zink klorida P**  $ZnCl_2$ ; BM 136,3; [7646-85-7]; murni pereaksi.

*Pemerian* Serbuk granul, putih atau hampir putih

**Zink sulfat P**  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ; BM 287,5; [7446-20-0]

*Pemerian* Serbuk granul, putih atau hampir putih murni pereaksi.

## Indikator dan Kertas Indikator

### INDIKATOR

Indikator diperlukan untuk pengujian dan penetapan kadar dalam Farmakope, untuk menunjukkan kesempurnaan reaksi kimia dalam analisis volumetrik atau menunjukkan konsentrasi ion hidrogen (pH)

larutan. Larutan indikator yang diperlukan terdapat dalam daftar *Pereaksi*, yang ditulis dengan "(nama indikator) LP".

Larutan indikator tipe basa dan ftalein dibuat dengan melarutkan dalam *etanol P*. Indikator yang mengandung gugus asam, harus dinetralkan dahulu dengan natrium hidroksida sebagai berikut:

Gerus 100 mg zat pada lumpang permukaan halus dengan sejumlah volume *natrium hidroksida 0,05 N* seperti yang tertera pada petunjuk pembuatan *Larutan Pereaksi*, atau dengan sejumlah volume *natrium hidroksida 0,02 N* yang setara. Jika indikator sudah larut, encerkan larutan dengan *air bebas karbon dioksida P* hingga 200 ml (0,05%). Simpan larutan dalam wadah yang sesuai, terlindung dari cahaya.

Beberapa indikator menurut batas bawah pH secara menaik adalah *biru timol*, pH 1,2-2,8; *kuning metil*, pH 2,9-4,0; *biru bromofenol*, pH 3,0-4,6; *hijau bromokresol*, pH 4,0-5,4; *merah metil*, pH 4,2-6,2; *ungu bromokresol*, pH 5,2-6,8; *biru bromotimol*, pH 6,0-7,6; *merah fenol*, pH 6,8-8,2; *biru timol*, pH 8,0-9,2; dan *timolftalein*, pH 8,6-10,0.

**Azo violet P** Gunakan *lembayung azo P*.

**Biru bromofenol P** 3',3'',5',5''-Tetrabromofenolsulfonftalein;  $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$ ; BM 669, 96.

*Pemerian* Hablur, kemerahan.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Trayek pH* Antara 3,0 dan 4,6. Perubahan warna: dari kuning menjadi biru.

**Biru bromokresol P** Gunakan *hijau bromokresol P*.

**Biru bromotimol P** 3',3''-Dibromotimolsulfonftalein P;  $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ ; BM 624, 38.

*Pemerian* Serbuk, warna krem.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Trayek pH* Antara 6,0 dan 7,6. Perubahan warna: dari kuning menjadi biru.

**Biru hidroksi naftol P** *Asam(1-(2-Naftolazo-3,6-asam disulfonat)-2-naftol-4-sulfonat, garam dinatrium*  $C_{20}H_{12}N_2O_{11}S_3Na_2$ ; BM 598,50; [165660-27-5]. Melekat pada hablur natrium klorida dengan kadar lebih kurang 1%.

**Biru metiltimol P** Gunakan *biru metiltimol P* seperti yang tertera pada *Pereaksi*.

**Biru metiltimol P, Campuran** Gunakan Campuran *biru metiltimol P* seperti yang tertera pada *Pereaksi*.

**Biru Nile hidroklorida P** *Biru Nile A sebagai hidroklorida; 5-Amino-9-(dietilamino) benzo [ $\alpha$ ] fenoksazin-7-iumklorida;  $C_{20}H_{20}ClN_3O$ ; BM 353,85.*

*Kelarutan* Sukar larut dalam etanol dan dalam asam asetat glasial.

*Trayek pH* Antara 9,0 dan 13,0. Perubahan warna: dari biru menjadi merah muda.

**Biru oraset B P** Campuran dari 1-metilamino-4-anilinoantrakinon ( $C_{21}H_{16}N_2O_2$ ) dan 1-amino-4-anilinoantrakinin ( $C_{20}H_{14}N_2O_2$ ). Jika digunakan pada titrasi bebas air warna akan berubah dari biru (alkalis) melalui ungu (netral) hingga merah muda (asam).

**Biru timol P** *Timolsulfonftalein*;  $C_{27}H_{30}O_5S$ ; BM 466,59.

*Pemerian* Serbuk hablur, warna gelap.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali encer.

*Trayek pH asam* Antara 1,2 dan 2,8. Perubahan warna: dari merah menjadi kuning.

*Trayek pH basa* Antara 8,0 dan 9,2. Perubahan warna: dari kuning menjadi biru.

**Fenolftalein P** *3,3-Bis(p-hidroksifenil)ftalida P*;  $C_{20}H_{14}O_4$ ; BM 318,33.

*Pemerian* Serbuk hablur, putih atau agak putih kekuningan.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 8,0 dan 10,0. Perubahan warna: dari tidak berwarna menjadi merah.

**Hijau berlian P** *Hijau malakit G*;  $C_{27}H_{34}N_2O_4S$ ; BM 482,64; [3051-11-4].

*Pemerian* Hablur, kuning keemasan, mengkilat. Serapan maksimum pada 623 nm.

*Kelarutan* Larut dalam air dan dalam etanol.

**Hijau bromokresol P** *Biru bromokresol P*; *Tetrabromo-m-kresol-sulfonftalein*;  $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ ; BM 698,01.

*Pemerian* Serbuk, kuning muda atau putih.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Trayek pH* Antara 4,0 dan 5,4. Perubahan warna: dari kuning menjadi biru.

**Hijau malakit oksalat P**  $[C_{23}H_{25}N_2^+]_2.[C_2HO_4^-]_2.C_2H_2O_4$ ; BM 927,00. Garam oksalat yang dihablurkan dengan *asam oksalat P*. Garam oksalat dari pewarna trifenilmetan.

*Pemerian* Serbuk hijau tua, mengkilap seperti logam.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air; larut dalam asam asetat glasial.

*Trayek pH* Antara 0,0 dan 2,0. Perubahan warna: dari kuning sampai hijau.

**Hitam eriokrom T P** *Hitam Mordant 11 [Natrium 1-(1-Hidroksi-2-naftilazo)5-nitro-2-naftol-4-sulfonat]*;  $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$ ; BM 461,38; [1787-61-7].

*Pemerian* Serbuk, hitam kecoklatan, mengkilat seperti logam.

*Kelarutan* Larut dalam etanol, dalam metanol dan dalam air panas.

*Kepekaan* Pada 10 ml larutan (1 dalam 200.000) dalam campuran *metanol P*-air (1:1), tambahkan larutan

*natrium hidroksida P* (1 dalam 100) hingga pH 10: larutan berwarna biru jernih dan bebas kekeruhan. Tambahkan 0,01 mg ion magnesium: warna larutan berubah menjadi merah violet. Tambahkan lagi ion magnesium, larutan menjadi merah anggur.

**Hitam eriokrom T, encer** Triturat hingga halus 200 mg *hitam eriokrom T P* dengan 20 g *kalium klorida P*.

**Jingga metil P** *Heliantin*; *Tropaeolin D*;  $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ ; [547-58-0]; CI 13025; BM 327,33. Garam natrium dimetilaminoazobenzen asam sulfonat atau dimetil amino-azobenzen natrium sulfonat.

*Pemerian* Serbuk atau hablur, jingga atau kuning.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air dingin; mudah larut dalam air panas; tidak larut dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 3,2 dan 4,4. Perubahan warna: dari merah muda menjadi kuning.

**Jingga xilenol P** (N,N'-[3H-2,1-benzoksaktiol-3-iliidenebis-[(6-hidroksi-5-metil-3,1-fenilen)metilen]] bis [N-(karboksi-metil) glisin] S,S-dioksida);  $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$ ; BM 760,58; [3618-43-7].

*Pemerian* Serbuk, jingga.

*Kelarutan* Larut dalam etanol dan dalam air; dalam larutan asam berwarna kuning jeruk dan kompleks logamnya berwarna merah intensif. Memberikan titik akhir jelas jika logam seperti bismuth, kadmium, lantanum, timbal, raksa, skandium, torium atau zink dititrasi dengan *dinatrium edetat LV*.

**Kristal violet P** *Heksametil-p-rosanilina klorida*;  $C_{25}H_{30}ClN_3$ ; BM 407,99; [548-62-9]; CI 42555.

*Pemerian* Hablur, hijau tua.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol dan dalam asam asetat glasial. Larutan berwarna lembayung tua.

*Kepekaan* Larutkan 100 mg dalam 100 ml *asam asetat glasial P*. Pipet 1 ml larutan ini ke dalam labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan *asam asetat glasial P* sampai tanda: larutan berwarna violet-biru dan tidak kemerahan. Pipet 20 ml larutan ini dan titrasi perlahan-lahan dengan *asam perklorat 0,1 N LV* sampai warna hijau zamrud menggunakan mikroburet: diperlukan tidak lebih dari 0,10 ml *asam perklorat 0,1 N*.

**Lakmus P**

*Pemerian* Serbuk, kubus, atau lembaran biru.

*Kelarutan* Larut sebagian dalam air dan dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 4,5 dan 8. Perubahan warna: dari merah menjadi biru. Lakmus tidak sesuai untuk menetapkan pH alkaloid, karbonat dan bikarbonat.

**Lembayung azo P** *Azo violet P*; *4-(p-Nitrofenilazo)resorsinol*;  $C_{12}H_9N_3O_4$ ; BM 259,22.

*Pemerian* Serbuk, merah.

*Suhu lebur* Lebih kurang 193° disertai peruraian.

**Merah fenol P** 4,4'-(3H-2,1-Benzoksatiol-3-iliden) difenol; *S,S*-Dioksida;  $C_{19}H_{14}O_5S$ ; BM 354,38; [143-74-8].

*Pemerian* Serbuk hablur, bermacam-macam warna dari merah cerah sampai merah tua.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; mudah larut dalam alkali karbonat dan hidroksida; sukar larut dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 6,8 dan 8,2. Perubahan warna: dari kuning menjadi merah.

**Merah kongo P**;  $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ ; BM 696,67; [573-58-0]; CI 22120.

*Pemerian* Serbuk, merah tua atau coklat kemerahan. Terurai bila terpapar udara menjadi asap yang asam. Larutan mempunyai pH antara 8 dan 9,5.

*Kelarutan* Satu gram larut dalam lebih kurang 30 ml air; sedikit larut dalam etanol.

*Susut pengeringan* <1121> Tidak lebih dari 3,0%; lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.

*Sisa pemijaran* Timbang saksama lebih kurang 1 gram zat, yang sebelumnya telah dikeringkan pada 105° selama 4 jam, dan tempatkan pada piring atau krus porselen. Pijarkan hati-hati hingga mengarang sempurna, dinginkan, tambahkan 2 ml *asam sulfat P*, dan pijarkan hati-hati hingga residu berwarna putih atau hampir putih. Dinginkan, tambahkan 0,5 ml *asam sulfat P* dan 1 ml *asam nitrat P*, uapkan, dan pijarkan lagi hingga bobot tetap: bobot natrium sulfat yang diperoleh antara 20,0% dan 24,0% dari bobot yang telah dikeringkan.

*Kepekaan* Pada 50 ml *air bebas karbondioksida P*, tambahkan 0,1 ml larutan *merah kongo P* (1 dalam 1000). Warna larutan berubah menjadi ungu dengan penambahan 0,05 ml *asam klorida 0,10 N* dan kembali menjadi merah jika ditambahkan 0,05 ml *natrium hidroksida 0,10 N*.

**Merah kresol P** *o*-Kresolsulfonftalein;  $C_{21}H_{18}O_5S$ ; BM 382,43; [1733-12-6].

*Pemerian* Serbuk, merah-coklat.

*Kelarutan* Sukar larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida encer.

*Trayek pH* Antara 7,2 dan 8,8. Perubahan warna: dari kuning menjadi merah.

**Merah kuinaldin P** 2-(4-Dimetilamino-2-stiriletilkuiolinium iodida;  $C_{21}H_{23}IN_2$ ; BM 430,33; [117-92-0].

*Pemerian* Serbuk, hitam-biru tua.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air; sangat mudah larut dalam etanol.

*Titik lebur* Lebih kurang 260° disertai peruraian.

*Trayek pH* Antara 1,4 dan 3,2. Perubahan warna: dari tidak berwarna menjadi merah.

**Merah metil P** *Asam 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo] benzoat hidroklorida*; 2-[4-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N:N] C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOH.HCl; BM 305,76.

*Pemerian* Serbuk, merah gelap atau hablur violet.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air; larut dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 4,2 dan 6,2. Perubahan warna: dari merah menjadi kuning.

**Merah netral P** 3-Amino-7-dimetilamino-2-metilfenazina monohidroklorida;  $C_{15}H_{16}N_4.HCl$ ; BM 288,78; [553-24-2]; CI 50040.

*Pemerian* Serbuk kasar, kemerahan sampai hijau zaitun.

*Kelarutan* Agak sukar larut dalam air dan dalam etanol.

*Trayek pH* Antara 6,8 dan 8,0. Perubahan warna: dari merah menjadi jingga.

**Metalftalein P** *Ungu ftalein*;  $C_{32}H_{32}N_2O_{12} + aq$ ; [2441-89-4].

*Pemerian* Serbuk, putih krem sampai coklat.

*Kepekaan* Larutkan 10 mg dalam 1 ml *amonium hidroksida P* dan encerkan dengan air hingga 100 ml. Pada 5 ml larutan tambahkan 95 ml air, 4 ml *amonium hidroksida P*, 50 ml *etanol P* dan 0,1 ml *barium klorida 0,1 M LV*: terbentuk warna ungu kebiruan. Tambahkan 0,15 ml *dinatrium edetat 0,1 M LV*: larutan menjadi tidak berwarna.

**1-Naftolbenzein P** *Fenilbis(4-hidroksinaftil)-metanol*;  $C_{27}H_{20}O_3$ ; [6948-88-5]; BM 392,5.

*Pemerian* Serbuk merah kecoklatan atau hablur hitam kecoklatan.

Jika digunakan pada titrasi bebas air, warnanya berubah dari biru hingga biru kehijauan (basa) kemudian jingga (netral) hingga hijau tua (asam).

**p-Naftolbenzein P** 4-[ $\alpha$ -(4-Hidroksi-1-naftil) benzilidena]-1-(4H)-naftalenon;  $C_{27}H_{18}O_2$ ; [145-50-6]; BM 374,43.

*Pemerian* Serbuk, coklat kemerahan.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dalam benzen, dalam eter dan dalam asam asetat glasial.

*Trayek pH* Antara 8,8 dan 10,0. Perubahan warna: dari jingga menjadi hijau.

**Timolftalein P**  $C_{28}H_{30}O_4$ ; BM 430,54.

*Pemerian* Serbuk hablur, putih sampai agak kuning.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Trayek pH* Antara 9,3 dan 10,5. Perubahan warna: dari tidak berwarna menjadi biru.

**Ungu bromokresol P** *Dibromo-o-kresolsulfonftalein*;  $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ ; BM 540,22.

*Pemerian* Serbuk hablur, putih sampai merah muda.

*Kelarutan* Tidak larut dalam air; larut dalam etanol dan dalam larutan alkali hidroksida.

*Trayek pH* Antara 5,2 dan 6,8. Perubahan warna: dari kuning menjadi ungu.

## KERTAS INDIKATOR

Kertas indikator adalah lembaran kertas dengan ukuran dan mutu yang sesuai (seperti yang tertera pada *Kertas saring kuantitatif dalam Daftar Pereaksi*) diimpregnasi dengan indikator atau pereaksi yang cukup

stabil untuk membuat bahan terimpregnasi. Sebagian kertas uji dapat diperoleh dari sumber komersial distributor alat laboratorium. Kertas yang diperlukan untuk pengujian dan penetapan kadar dalam Farmakope, dapat disiapkan seperti tertera dalam paragraf berikut, menggunakan larutan yang khusus atau sesuai untuk suatu pengujian seperti yang tertera dalam judul masing-masing.

Rendam kertas saring putih yang keras/kuat dalam *asam klorida P* dan cuci dengan air sampai air cucian terakhir tidak menunjukkan reaksi asam terhadap *merah metil LP*. Kemudian rendam dengan *amoniasia LP*, dan cuci lagi dengan air sampai air cucian terakhir tidak menunjukkan reaksi alkali terhadap *fenolftalein LP*.

Setelah dikeringkan, jenuhkan kertas dengan larutan indikator dengan kepekatan yang sesuai, dan keringkan hati-hati dalam udara tidak mengalir kecuali dinyatakan lain, dengan menggantungkannya pada batang kaca atau bahan inert lain dalam ruangan yang bebas asam, alkali dan uap lainnya.

Potong kertas menjadi ukuran yang sesuai, dan simpan dalam wadah tertutup rapat terlindung dari cahaya dan kelembaban.

**Kertas fenolftalein P** Gunakan larutan *fenolftalein P* dalam *etanol encer P* (1 dalam 1000).

**Kertas kanji iodida P** Gunakan larutan 500 mg *kalium iodida P* dalam 100 ml *kanji LP* segar.

**Kertas kuning tiazol P** *Kertas kuning titan P*; Gunakan larutan *kuning tiazol P* (1 dalam 2000).

**Kertas lakmus biru P** Biasanya berukuran lebih kurang 50 mm x 6 mm dan memenuhi syarat pada pengujian berikut:

**Fosfat** Potong 5 helai menjadi bagian-bagian kecil, campur dengan 500 mg *magnesium nitrat P* dalam krus porselen dan pijarkan. Pada residu tambahkan 5 ml *asam nitrat P* dan uapkan hingga kering: residu tidak lebih dari 0,02 mg  $PO_4$ ; lakukan penetapan seperti yang tertera pada *Uji Pereaksi*.

**Sisa pemijaran** Pijarkan hati-hati 10 lembar hingga bobot tetap: bobot residu tidak lebih dari 0,4 mg per helai yang lebih kurang 3 cm<sup>2</sup>.

**Asam-asam rosin** Celupkan selembat kertas biru ke dalam larutan 100 mg *perak nitrat P* dalam 50 ml air: warna kertas tidak berubah dalam waktu 30 detik.

**Kepekaan** Jatuhkan selembat potongan kertas berukuran 10 hingga 12 mm ke dalam 100 ml asam 0,0005 N di dalam gelas piala, aduk terus menerus: warna kertas berubah dalam waktu 45 detik. Asam 0,0005 N dibuat dengan mengencerkan 1 ml *asam klorida 0,1 N* dengan *Air murni* yang baru dididihkan dan didinginkan, hingga 200 ml.

**Kertas lakmus merah P** Biasanya berukuran lebih kurang 50 mm x 6 mm. *Kertas lakmus merah P* memenuhi syarat pengujian *Fosfat*, *Sisa pemijaran* dan

*Asam-asam rosin* seperti yang tertera pada *Kertas lakmus biru P*.

**Kepekaan** Jatuhkan selembat potongan kertas berukuran 10 sampai 12 mm ke dalam 100 ml natrium hidroksida 0,0005 N dalam gelas piala, dan aduk terus menerus: warna kertas berubah dalam waktu 30 detik. Natrium hidroksida 0,0005 N dibuat dengan mengencerkan 1 ml *natrium hidroksida 0,1 N* dengan *Air Murni* yang baru dididihkan dan didinginkan hingga 200 ml.

**Kertas merah kongo P** Celupkan kertas saring bentuk pita beberapa menit dalam *merah kongo LP* dan keringkan pada suhu ruang.

**Kertas metil hijau-raksa iodida P** Celupkan secarik kertas saring tipis ke dalam larutan *hijau metil P* 4% dan biarkan kering di udara. Celupkan kertas tersebut dalam larutan yang mengandung *kalium iodida P* 14% dan *raksa(II) iodida P* 20% selama 1 jam. Cuci dengan *Air murni* hingga air cucian praktis tidak berwarna dan biarkan kering di udara.

**Wadah dan penyimpanan** Terlindung dari cahaya dan digunakan dalam 48 jam.

**Kertas raksa(II) bromida P** Celupkan selembat kertas saring yang mempunyai bobot 80 g/m<sup>2</sup> dalam cawan yang berisi *raksa(II) bromida etanol LP*. Kertas saring dilipat dua dengan ukuran 20 x 1,5 cm, angkat kertas, biarkan kelebihan cairan menetes sampai kering, lindungi dari cahaya. Letakkan di atas permukaan bukan logam. Buang masing-masing 1 cm dari tepi, kemudian potong sisanya dalam ukuran 1,5 cm<sup>2</sup> atau lingkaran dengan diameter 1,5 cm.

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya.

**Kertas tembaga(II) sulfat P** Gunakan *tembaga(II) sulfat LP*.

**Kertas timbal(II) asetat P** Biasanya berukuran lebih kurang 80 x 6 mm. Gunakan *timbang(II) asetat LP*, dan keringkan kertas pada suhu 100°, hindarkan kontak dengan logam.



## LARUTAN

### LARUTAN DAPAR

Keberhasilan dari beberapa pengujian dan penetapan kadar di dalam Farmakope memerlukan pengaturan atau mempertahankan pH tertentu dengan penambahan larutan dapar. Dalam pengukuran pH, larutan dapar baku diperlukan untuk pembakuan.

Suatu larutan dikatakan didapar jika dapat menahan perubahan aktivitas ion pada penambahan senyawa yang diharapkan mengubah aktivitas ion tersebut. Dapar adalah zat atau kombinasi zat yang memberikan kemampuan kepada ketahanan terhadap suatu larutan. Larutan didapar merupakan suatu sistem yang mengandung ion seimbang dengan zat yang mampu mengikat atau melepaskan ion itu.

Kapasitas dapar berhubungan dengan jumlah bahan yang mungkin ditambahkan ke dalam larutan tanpa menyebabkan perubahan aktivitas ion yang berarti. Didefinisikan sebagai perbandingan asam atau basa yang ditambahkan (dalam gram ekuivalen per liter) untuk mengubah pH (dalam satuan pH). Kapasitas larutan dapar diatur terhadap kondisi penggunaan, biasanya dengan pengaturan kadar zat dapar.

Dapar digunakan untuk menentukan dan mempertahankan aktivitas ion dalam batas yang sempit. Sistem yang paling umum digunakan a) untuk menentukan aktivitas ion hidrogen pada kalibrasi pH meter; b) penyiapan bentuk sediaan yang mendekati isotonisitas; c) pada prosedur analitik; dan d) mempertahankan stabilitas berbagai bentuk sediaan. Dapar yang digunakan dalam sistem fisiologik harus dipilih dengan hati-hati sehingga tidak mengganggu aktivitas farmakologi obat atau fungsi normal organisme. Perlu diketahui bahwa dapar yang digunakan dalam analisis kimia sesuai dengan zat yang ditetapkan dan pereaksi yang digunakan.

**Larutan dapar baku** Larutan baku pH tertentu siap tersedia dalam larutan dapar yang dibuat dari pereaksi yang sesuai. Selain itu larutan dapar, tablet dapar, padatan dapar dapat diperoleh di perdagangan dalam kemasan siap pakai. Sediaan ini tersedia juga di lingkup analisis farmasetik, akan tetapi tidak dianjurkan untuk pembakuan pH meter, seperti tertera pada *Penetapan pH <1071>*.

Pereaksi yang diperlukan tertera pada *Pereaksi*. Lakukan pengeringan terlebih dahulu pereaksi hablur kecuali asam borat, pada suhu 110° hingga 120° selama 1 jam.

[Catatan Jika air disebutkan untuk larutan atau pengencer zat uji pada penetapan pH, gunakan air bebas karbon dioksida.]

Simpan larutan yang dibuat dalam wadah tahan terhadap zat kimia, tertutup rapat, seperti wadah kaca tipe I. Gunakan larutan dalam waktu 3 bulan.

*Larutan dapar baku* pada berbagai rentang, antara pH 1,2 dan 10,0 dapat dibuat dengan kombinasi sesuai larutan 0,2 M yang disebutkan berikut, digunakan dalam perbandingan seperti tertera pada *Tabel* berikut. Volume yang tercantum dalam *Tabel* untuk 200 ml larutan dapar, kecuali volume dapar asetat dibuat untuk 1000 ml larutan dapar.

1. *Asam klorida 0,2 M* dan *natrium hidroksida 0,2 M* Buat dan bakukan seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.
2. *Kalium biftalat 0,2 M* Larutkan 40,85 g *kalium biftalat P* [ $\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$ ] dalam air dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.
3. *Kalium fosfat monobasa 0,2 M* Larutkan 27,22 g *kalium fosfat monobasa P* ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dalam air dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.
4. *Asam borat dan Kalium klorida 0,2 M* Larutkan 12,37 g *asam borat P* ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) dan 14,91 g *kalium klorida P* (KCl) dalam air dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.
5. *Kalium klorida 0,2 M* Larutkan 14,91 g *kalium klorida P* (KCl) dalam air dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.
6. *Asam asetat 0,2 N* Buat dan bakukan seperti tertera pada *Larutan Volumetrik*.

### Komposisi Larutan Dapar Baku

#### Dapar Asam Klorida

Masukkan 50 ml kalium klorida 0,2 M ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan volume tertentu asam klorida 0,2 M, kemudian tambahkan air sampai tanda.

pH	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0	2,1	2,2
HCl, ml	85,0	67,2	53,2	41,4	32,4	26,0	20,4	16,2	13,0	10,2	7,8

#### Dapar Ftalat Asam

Masukkan 50 ml kalium biftalat 0,2 M ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan volume tertentu asam klorida 0,2 M, kemudian tambahkan air sampai tanda.

pH	2,2	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0
HCl, ml	49,5	42,2	35,4	28,9	22,3	15,7	10,4	6,3	2,9	0,1

#### Dapar Ftalat Netral

Masukkan 50 ml kalium biftalat 0,2 M ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan volume tertentu natrium hidroksida 0,2M, kemudian tambahkan air sampai tanda.

pH	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2	5,4	5,6	5,8
NaOH, ml	3,0	6,6	11,1	16,4	22,6	28,8	34,1	38,8	42,3

#### Dapar Fosfat

Masukkan 50 ml kalium fosfat monobasa 0,2 M ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan volume tertentu natrium hidroksida 0,2 M, kemudian tambahkan air sampai tanda.

pH	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0
NaOH, ml	3,6	5,6	8,1	11,6	16,4	22,4	29,1	34,7	39,1	42,4	44,5	46,1

#### Dapar Borat Alkalis

Masukkan 50 ml asam borat P dan kalium klorida 0,2 M ke dalam labu tentukur 200-ml, tambahkan volume tertentu natrium hidroksida 0,2 M, kemudian tambahkan air sampai tanda.

pH	8,0	8,2	8,4	8,6	8,8	9,0	9,2	9,4	9,6	9,8	10,0
NaOH, ml	3,9	6,0	8,6	11,8	15,8	20,8	26,4	32,1	36,9	40,6	43,7

#### Dapar Asetat

Masukkan sejumlah tertentu natrium asetat,  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan volume tertentu asam asetat 0,2 N, kemudian tambahkan air sampai tanda.

pH	4,1	4,3	4,5	4,7	4,9	5,1	5,2	5,3	5,4	5,5
pH (terukur)	4,10	4,29	4,51	4,70	4,90	5,11	5,18	5,30	5,40	5,48
$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , g	1,5	1,99	2,99	3,59	4,34	5,08	5,23	5,61	5,76	5,98
$\text{CH}_3\text{COOH}$ , ml	19,5	17,7	14,0	11,8	9,1	6,3	5,8	4,4	3,8	3,0

## LARUTAN KOLORIMETRIK (LK)

(Untuk penyiapan *Larutan padanan*; lakukan seperti tertera pada *Warna dan Akromisitas* <1291>.

Larutan ini digunakan dalam pembuatan baku kolorimetrik untuk obat tertentu dan untuk uji karbonisasi dengan asam sulfat yang tertera di dalam beberapa monografi. Simpan larutan di dalam wadah tertutup rapat dengan ketahanan yang sesuai.

Perbandingan warna seperti tertera pada pengujian dalam Farmakope lebih baik dilakukan menggunakan tabung khusus pembanding warna atau yang menjamin bahwa larutan baku kolorimetrik dan contoh yang diuji diperlakukan dengan cara yang sama. Perbandingan warna paling baik dilakukan pada lapisan dengan ketebalan sama dan dilihat secara melintang dengan latar belakang berwarna putih. Perlu diperhatikan bahwa larutan dibandingkan pada suhu yang sama, sebaiknya pada suhu 25°.

**Besi(III) klorida LK** Larutkan lebih kurang 55 g *besi(III) klorida P* ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dalam campuran 25 ml *asam klorida P* dan 975 ml air secukupnya hingga 1000 ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu iodum 250 ml, tambahkan 15 ml air, 3 g *kalium iodida P* dan 20 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 4). Jika endapan telah larut, titrasi iodium yang dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* sebagai indikator. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 27,03 mg ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )*

Atur volume akhir larutan dengan penambahan campuran *asam klorida P* dan air secukupnya hingga tiap ml mengandung 45,0 mg ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

**Kobalt(II) klorida LK** Larutkan lebih kurang 65 g *kobalt(II) klorida P* ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dalam campuran 25 ml *asam klorida P* dan 975 ml air secukupnya hingga 1000 ml. Pipet 5 ml larutan ini ke dalam labu iodum 250 ml, tambahkan 5 ml *hidrogen peroksida LP* dan 15 ml *natrium hidroksida P* (1 dalam 5), didihkan selama 10 menit, dinginkan, tambahkan 2 g *kalium iodida P* dan 20 ml *asam sulfat P* (1 dalam 4). Jika endapan telah melarut, titrasi iodium yang dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* sebagai indikator. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 23,97 mg ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )*

Atur volume akhir larutan dengan penambahan campuran *asam klorida P* dan air secukupnya hingga tiap ml mengandung 59,5 mg ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

**Tembaga(II) sulfat LK** Larutkan lebih kurang 65 g *tembaga(II) sulfat P* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) dalam campuran 25 ml *asam klorida P* dan 975 ml air secukupnya hingga

1000 ml. Pipet 10 ml larutan ini ke dalam labu iodum 250 ml, tambahkan 40 ml air, 4 ml *asam asetat P*, 3 g *kalium iodida P* dan 5 ml *asam klorida P*. Titrasi iodium yang dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* sebagai indikator. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 24,97 mg ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )*

Atur volume akhir larutan dengan penambahan campuran *asam klorida P* dan air secukupnya hingga tiap ml mengandung 62,4 mg ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).

## LARUTAN VOLUMETRIK (LV)

**Larutan Normal** Larutan normal adalah larutan yang mengandung 1 gram-ekuivalen zat aktif dalam tiap 1000 ml larutan; yang setara dengan 1,0079 g hidrogen atau 7,9997 g oksigen. Larutan normal yang digunakan dalam penetapan volumetrik, dinyatakan sebagai berikut: normal, 1 N; normal ganda, 2 N; setengah normal, 0,5 N; sepersepuluh normal, 0,1 N; sepelempuluh normal, 0,02 N; seperseratus normal, 0,01 N; seperseribu normal, 0,001 N.

**Larutan Molar** Larutan molar adalah larutan yang mengandung 1 gram-molekul pereaksi dalam 1000 ml larutan. Dengan demikian, setiap liter larutan molar asam sulfat mengandung 98,07 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dan setiap liter larutan molar kalium heksasianoferat (III) mengandung 329,25 g  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ . Larutan yang mengandung sepersepuluh gram molekul pereaksi dalam 1000 ml dinyatakan sepersepuluh molar, 0,1 M; dan molaritas lain dinyatakan dengan cara yang sama.

**Larutan Empirik** Seringkali sukar untuk membuat larutan baku dengan normalitas sesuai dengan yang diinginkan. Larutan yang mendekati normalitas yang diinginkan dibuat dan dibakukan dengan titrasi terhadap larutan baku primer. Nilai normalitas yang diperoleh, digunakan dalam seluruh perhitungan pada pemakaian larutan empirik. Jika diinginkan larutan yang dibuat secara empiris dapat diencerkan hingga normalitas yang diinginkan.

Semua larutan volumetrik, yang dibuat langsung atau melalui pengenceran, harus dikocok sebelum dibakukan. Normalitas larutan baku dapat berubah bila dibiarkan lama. Normalitas harus ditetapkan secara berulang.

Jika normalitas larutan pereaksi yang digunakan beragam, rincian pembuatan dan pembakuan biasanya diberikan untuk normalitas larutan yang paling sering digunakan. Larutan yang normalitasnya lebih kuat atau lebih lemah dibuat dan dibakukan dengan cara yang sama, menggunakan jumlah pereaksi sebanding. Normalitas yang lebih rendah dapat dibuat secara saksama, dengan pengenceran yang tepat dari larutan yang lebih kuat. Larutan volumetrik yang dibuat dengan pengenceran harus dibakukan kembali.

Larutan encer yang tidak stabil, seperti kalium permanganat 0,01 N dan natrium tiosulfat yang lebih encer, dibuat dengan cara mengencerkan dengan saksama larutan yang normalitasnya lebih tinggi dengan air.

**Penetapan Blangko** Jika dinyatakan "Lakukan penetapan blangko", penetapan dilakukan dengan cara yang sama seperti pada larutan uji tetapi tanpa zat uji. Koreksi blangko dilakukan seperti tertera pada *Titrimetri* <711>.

Semua penetapan kadar dengan cara volumetrik dalam Farmakope menunjukkan bobot zat uji setara dengan jumlah ml larutan volumetrik primer. Secara umum, kesetaraan ini dapat diperoleh dari perhitungan sederhana dari data seperti tertera pada *Daftar Bobot Atom Unsur*.

#### **Pembuatan dan Metode Pembakuan Larutan Volumetrik**

Pembakuan larutan volumetrik dilakukan dengan metode yang sudah ditentukan atau metode lain yang ketelitiannya sama atau lebih. Hasil yang diperoleh dari pembakuan larutan volumetrik absah untuk pemakaian larutan dalam Farmakope, seperti dinyatakan pada masing-masing monografi. Jika normalitas atau molaritas titran mempunyai kondisi khusus pada penggunaan, harus diberikan petunjuk pembakuan larutan. Untuk garam-garam yang tersedia sebagai baku primer dan telah disertifikasi, atau baku primer dengan kemurnian yang tinggi yang tersedia sebagai garam dengan kemurnian tinggi kualitas baku primer, diizinkan untuk membuat larutan dengan kadar yang diketahui. Asam asetat, asam klorida dan asam sulfat dapat dibakukan dengan larutan natrium hidroksida yang baru dibakukan terhadap baku primer yang bersertifikat.

Semua larutan volumetrik sedapat mungkin dibuat, dibakukan dan digunakan pada suhu baku 25°. Jika titrasi dilakukan dengan larutan volumetrik pada suhu berbeda, bakukan larutan volumetrik yang digunakan sebagai titran.

#### **Amonium tiosianat 0,1 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 7,612 g NH<sub>4</sub>SCN (BM 76,12)**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 8 g amonium tiosianat P dalam 1000 ml air.

*Pembakuan* Ukur saksama lebih kurang 30 ml perak nitrat 0,1 N LV, masukkan ke dalam labu bersumbat kaca. Encerkan dengan 50 ml air, kemudian tambahkan 2 ml asam nitrat P dan 2 ml besi(III) amonium sulfat LP, titrasi dengan larutan amonium tiosianat hingga terjadi warna pertama coklat merah. Hitung normalitas larutan.

$$N = \frac{\text{ml AgNO}_3 \times N \text{ AgNO}_3}{\text{ml larutan NH}_4\text{SCN}}$$

Jika diinginkan, amonium tiosianat 0,1 N dapat diganti dengan kalium tiosianat 0,1 N pada berbagai pengujian.

#### **Asam klorida 1 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 36,46 g HCl (BM 36,46)**

*Pembuatan* Encerkan 85 ml asam klorida P dengan air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 5,0 g trometamin P, keringkan sesuai petunjuk pada etiket. Larutkan dalam 50 ml air dan tambahkan 2 tetes bromkresol hijau LP. Titrasi dengan asam hidroklorida 1 N hingga titik akhir kuning pucat.

*Tiap ml asam klorida 1 N setara dengan 121,14 mg trometamin*

$$N = \frac{\text{mg trometamin}}{121,14 \times \text{ml HCl}}$$

#### **Asam klorida metanol 0,5 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 18,23 g HCl (BM 36,46)**

*Pembuatan* Ke dalam labu tentukur 1000-ml yang berisi 40 ml air, tambahkan perlahan-lahan 43 ml asam klorida P. Dinginkan dan tambahkan metanol P sampai tanda.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 2,5 g trometamin P, keringkan sesuai petunjuk pada etiket. Lakukan seperti tertera pada *Asam klorida 1 N*, mulai dari "Larutkan dalam 50 ml air".

$$N = \frac{\text{mg trometamin}}{121,14 \times \text{ml HCl}}$$

#### **Asam nitrat 1 N (BM 63,01)**

*Pembuatan* Encerkan 68 ml asam nitrat P dengan air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 2 g natrium karbonat anhidrat P, larutkan dalam 50 ml air dan titrasi dengan larutan asam nitrat menggunakan indikator 0,1 ml jingga metil LP hingga larutan berwarna kuning kemerahan. Didihkan 2 menit. Larutan kembali berwarna kuning. Didihkan dan lanjutkan titrasi hingga terjadi kembali warna kuning kemerahan. Hitung normalitas larutan.

*Tiap ml asam nitrat 1 N setara dengan 53,00 mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>*

**Asam perklorat 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 10,05 g HClO<sub>4</sub>**  
**(BM 100,46)**

[Catatan Jika untuk pengujian dan penetapan kadar, ditetapkan "asam perklorat 0,1 N" atau kekuatan lain, gunakan larutan dalam asam asetat glasial, kecuali dinyatakan "dalam dioksan". Seperti tertera pada Asam perklorat dioksan 0,1 N.]

Pembuatan Masukkan 8,5 ml asam perklorat P ke dalam 500 ml asam asetat glasial P, tambahkan 21 ml anhidrida asetat P, dinginkan dan tambahkan asam asetat glasial P hingga 1000 ml. Biarkan selama 24 jam. Sebagai pilihan lain, larutan dapat dibuat sebagai berikut: Campur 11 ml asam perklorat P 60% dan 30 ml asam asetat anhidrida P, dinginkan dan tambahkan asam asetat glasial P hingga 1000 ml. Biarkan larutan yang dibuat selama 1 hari, kelebihan air ditetapkan dengan Metode Titrasi, seperti tertera pada Penetapan Kadar Air <1031>. Jika kadar air lebih dari 0,05%, tambahkan lagi asam asetat anhidrida P. Jika larutan tidak mengandung air yang dapat dititrasi, tambahkan air secukupnya hingga kadar air antara 0,02% dan 0,05%. Biarkan larutan selama 1 hari dan tetapkan kembali kandungan air. Larutan yang diperoleh dengan kandungan air antara 0,02% dan 0,05% menunjukkan bebas dari asam asetat anhidrida.

Pembakuan Timbang saksama lebih kurang 700 mg kalium biftalat P yang sebelumnya telah dihaluskan dengan hati-hati dan dikeringkan pada suhu 120° selama 2 jam dan larutkan dalam 50 ml asam asetat glasial P dalam labu 250 ml. Tambahkan 2 tetes kristal violet LP dan titrasi dengan larutan asam perklorat sampai warna ungu berubah menjadi hijau biru. Lakukan penetapan blangko. Hitung normalitas larutan.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N setara dengan  
 20,42 mg kalium biftalat

$$N = \frac{g \text{ KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4}{0,20423 \times \text{ml HClO}_4 \text{ (terkoreksi)}}$$

**Asam perklorat dioksan 0,1 N**

Pembuatan Campur 8,5 ml asam perklorat P dengan dioksan P yang telah dimurnikan dengan adsorpsi, hingga 1000 ml.

Pembakuan Timbang saksama lebih kurang 700 mg kalium biftalat P yang sebelumnya telah dihaluskan dengan hati-hati dan dikeringkan pada suhu 120° selama 2 jam dan larutkan dalam 50 ml asam asetat glasial P dalam labu 250 ml. Tambahkan 2 tetes kristal violet LP dan titrasi dengan larutan asam perklorat sampai warna ungu berubah menjadi hijau kebiruan. Lakukan penetapan blangko. Hitung normalitas larutan.

Tiap ml asam perklorat 0,1 N  
 setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

$$N = \frac{g \text{ KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4}{0,20423 \times \text{ml HClO}_4 \text{ (terkoreksi)}}$$

**Asam sulfat 1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 49,04 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**  
**(BM 98,07)**

Pembuatan Tambahkan hati-hati dengan pengadukan, 30 ml asam sulfat P pada lebih kurang 1020 ml air, biarkan dingin hingga suhu 25° dan tetapkan normalitas dengan titrasi terhadap natrium karbonat seperti tertera pada Asam klorida 1 N.

**Asam sulfat etanol 0,5 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 24,52 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**  
**(BM 98,08)**

Pembuatan Tambahkan secara hati-hati dengan pengadukan 13,9 ml asam sulfat P pada sejumlah etanol mutlak P. Tambahkan etanol mutlak P hingga 1000 ml. Dinginkan dan bakukan terhadap trometamin P seperti tertera pada Asam klorida metanol 0,5 N.

$$N = \frac{\text{mg trometa min}}{121,14 \times \text{ml H}_2\text{SO}_4}$$

**Barium klorida 0,1 M BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O**  
**(BM 242,3)**

Pembuatan Larutkan 24,4 g barium klorida P dalam air hingga 1000 ml.

Pembakuan Pipet 10 ml larutan, tambahkan 60 ml air, 3 ml amonium hidrosida P dan 0,5 hingga 1 mg unguftalein P sebagai indikator dan titrasi dengan dinatrium edetat 0,1 M LV. Pada waktu larutan mulai tidak berwarna, tambahkan 50 ml etanol P dan titrasi hingga larutan tidak berwarna. Hitung molaritas larutan.

Tiap ml dinatrium edetat 0,1 M  
 setara dengan 24,43 mg BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O

**Besi(II) amonium sulfat 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 39,21 g**  
**Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O**  
**(BM 392,14)**

Pembuatan Larutkan 40 g besi(II) amonium sulfat P dalam campuran 40 ml asam sulfat P dan 200 ml air yang sebelumnya telah didinginkan, encerkan dengan air hingga 1000 ml dan campur. Gunakan dalam sehari.

Pembakuan Ukur saksama lebih kurang 25 ml hingga 30 ml larutan, masukkan ke dalam labu, tambahkan 2 tetes ortofenantrolin LP dan titrasi dengan serium(IV)

sulfat 0,1 N LV hingga warna merah berubah menjadi warna biru pucat. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml Ce^{IV} \times N Ce^{IV}}{ml larutan Fe^{II}}$$

**Besi(III) amonium sulfat 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 48,22 g**  
**Fe(NH<sub>4</sub>)(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O**  
**(BM 482,19)**

*Pembuatan* Larutkan 50 g besi(II) amonium sulfat P dalam campuran 300 ml air dan 6 ml asam sulfat P, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Ukur saksama 40 ml larutan, masukkan ke dalam labu bersumbat kaca, tambahkan 5 ml asam klorida P, campur dan tambahkan larutan 3 g kalium iodida P dalam 10 ml air. Tutup, biarkan 10 menit, kemudian titrasi iodum yang dibebaskan dengan natrium tiosulfat 0,1 N LV, tambahkan indikator 3 ml kanji LP menjelang titik akhir. Lakukan penetapan blangko. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml Na_2S_2O_3 \times N Na_2S_2O_3}{ml FeNH_4(SO_4)_2}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah tertutup kecap, terlindung cahaya.

**Brom 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 7,990 g Br**  
**(BA 79,90)**

*Pembuatan* Larutkan 3 g kalium bromat P dan 15 g kalium bromida P dalam air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Ukur saksama lebih kurang 25 ml larutan, masukkan ke dalam labu iodum 500 ml dan encerkan dengan 120 ml air. Tambahkan 5 ml asam klorida P, tutup, kocok perlahan-lahan. Kemudian tambahkan 5 ml kalium iodida LP, tutup kembali, kocok campuran, biarkan selama 5 menit dan titrasi iodum yang dibebaskan dengan natrium tiosulfat 0,1 N LV, tambahkan 3 ml kanji LP pada saat mendekati titik akhir. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml Na_2S_2O_3 \times N Na_2S_2O_3}{ml larutan Br_2}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam botol bersumbat kaca, berwarna cokelat tua.

**Dinatrium etilendiaminatetraasetat 0,05 M**  
*Dinatrium edetat 0,05 M*  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 18,61 g**  
**C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub> · 2H<sub>2</sub>O**  
**(BM 372,2)**

*Pembuatan* Larutkan 18,6 g dinatrium etilendiamina tetraasetat P dalam air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 200 mg baku selometrik kalsium karbonat P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 110° selama 2 jam dan didinginkan dalam desikator, masukkan ke dalam gelas piala 400 ml, tambahkan 10 ml air dan goyang hingga terbentuk bubuk. Tutup gelas piala dengan kaca arloji dan masukkan 2 ml asam klorida encer P dengan pipet, yang dimasukkan di antara bibir gelas piala dan tepi kaca arloji. Goyang isi gelas piala untuk melarutkan kalsium karbonat. Cuci dinding gelas piala, permukaan luar pipet dan kaca arloji dengan air, dan encerkan dengan air hingga lebih kurang 100 ml. Sambil diaduk sebaiknya dengan pengaduk magnetik, tambahkan lebih kurang 30 ml larutan dinatrium etilendiamintetraasetat melalui buret 50 ml. Tambahkan 15 ml natrium hidroksida LP dan 300 mg indikator biru hidroksinaftol P dan lanjutkan titrasi dengan larutan dinatrium etilendiaminatetraasetat sampai terjadi titik akhir warna biru. Hitung molaritas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{W}{100,09V}$$

W adalah bobot dalam mg, CaCO<sub>3</sub>, dalam kalsium karbonat P yang digunakan; V adalah volume dalam ml larutan dinatrium etilendiaminatetraasetat yang diperlukan.

**Indigo karmin**

*Pembuatan* Gerus 4 g indigo karmin P dengan bagian air sedikit demi sedikit (tidak lebih dari 900 ml) hingga larut dan pindahkan larutan ke dalam gelas ukur 1000 ml. Tambahkan 2 ml asam sulfat P dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Pada 10 ml Larutan baku nitrat (NO<sub>3</sub> 100 bpj) tambahkan 10 ml air, 0,05 ml larutan indigo karmin dan dengan hati-hati sekaligus 30 ml asam sulfat P. Titrasi larutan dengan larutan indigo karmin hingga terjadi titik akhir warna biru yang mantap. Tiap ml indigo karmin setara dengan 1 mg NO<sub>3</sub>.

**Iodum 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 12,69 g I**  
**(BA 126,90)**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 14 g iodum P dalam larutan 36 g kalium iodida P dalam 100 ml air, tambahkan 3 tetes asam klorida P, encerkan dengan air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Pipet 25 ml larutan *iodum 0,1 N* masukkan ke dalam labu *iodum 250 ml*, tambahkan air hingga 100 ml, tambahkan 1 ml *asam klorida 1 N*, kocok perlahan untuk mencampurkan dan titrasi dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV* hingga larutan berwarna kuning pucat. Tambahkan 2 ml *kanji LP* dan lanjutkan titrasi hingga larutan tidak berwarna.

$$N = \frac{ml Na_2S_2O_3 \times N Na_2S_2O_3}{25}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam botol sumbat kaca berwarna cokelat tua.

#### **Kalium arsenit 0,1 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 7,301 g  $KAsO_2$  (BM 146,02)**

*Pembuatan* Larutkan 4,9455 g *arsen trioksida P* yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu  $105^\circ$  selama 1 jam dalam 75 ml *kalium hidroksida 1 N*. Tambahkan 40 g *kalium bikarbonat P*, larutkan dalam lebih kurang 200 ml air dan encerkan sampai 1000,0 ml.

#### **Kalium bromat 0,1 N $KBrO_3$ (BM 167,00)**

Larutkan 2,784 g *kalium bromat P* ( $KBrO_3$ ) dalam air hingga 1000 ml dan bakukan larutan sebagai berikut:

Pindahkan secara saksama sejumlah volume lebih kurang 40 ml larutan ke dalam labu Erlenmeyer bersumbat kaca, tambahkan 3 g *kalium iodida P* dan 3 ml *asam klorida P*. Biarkan selama 5 menit, kemudian titrasi *iodum* yang terbentuk dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan 3 ml *kanji LP* mendekati titik akhir. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml Na_2S_2O_3 \times N \times Na_2S_2O_3}{ml \text{ larutan } KBrO_3}$$

#### **Kalium bromida-bromat 0,1 N**

Larutkan 2,78 g *kalium bromat P* ( $KBrO_3$ ) dan 12,0 g *kalium bromida P* ( $KBr$ ) dalam air dan encerkan dengan air hingga 1000 ml. Bakukan larutan seperti tertera pada *Kalium bromat 0,1 N*.

$$N = \frac{ml Na_2S_2O_3 \times N \times Na_2S_2O_3}{ml KBrO_3 / KBr}$$

#### **Kalium hidroksida 1 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 56,11 g KOH**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 68 g *kalium hidroksida P* dalam 950 ml air. Tambahkan larutan *barium hidroksida P* jenuh yang dibuat segar hingga tidak terbentuk endapan. Kocok campuran dengan saksama dan biarkan semalam dalam botol bersumbat. Enaptuangkan cairan jernih atau saring larutan dalam botol polyolefin bersumbat rapat dan bakukan dengan prosedur seperti tertera pada *Natrium hidroksida 1 N*.

$$N = \frac{g KHC_8H_4O_4}{0,20432 \times ml KOH}$$

#### **Kalium hidroksida etanol 0,5 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 28,06 g KOH**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 34 g *kalium hidroksida P* hingga 1000 ml. Biarkan larutan dalam botol tertutup rapat selama 24 jam. Kemudian enaptuangkan beningan secara cepat ke dalam botol yang sesuai dan bertutup rapat.

*Pembakuan* Ukur saksama 25 ml *asam klorida 0,5 N LV*, encerkan dengan 50 ml air, tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* dan titrasi dengan larutan kalium hidroksida etanol hingga terjadi warna merah muda pucat yang mantap. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml HCl \times N HCl}{ml KOH}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam botol tertutup rapat, terlindung cahaya.

#### **Kalium hidroksida metanol 0,1 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 5,612 g KOH**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 6,8 g *kalium hidroksida P* dalam 4 ml air dan tambahkan *metanol P* hingga 1000 ml. Biarkan larutan dalam botol tertutup rapat selama 24 jam. Kemudian enaptuangkan beningan secara cepat ke dalam botol yang sesuai dan bertutup rapat.

*Pembakuan* Ukur saksama 25 ml *asam klorida 0,1 N LV*, encerkan dengan 50 ml air, tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* dan titrasi dengan larutan kalium hidroksida metanol hingga terjadi warna merah muda. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml HCl \times N HCl}{ml KOH}$$

Wadah dan penyimpanan Dalam botol tertutup rapat, terlindung cahaya.

**Kalium iodat 0,05 M**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 10,70 g KIO<sub>3</sub>**  
**(BM 214,00)**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 10,70 g kalium iodat P yang sebelumnya sudah dikeringkan pada suhu 110° sampai bobot tetap dalam air hingga 1000,0 ml.

*Pembakuan* Tuangkan 15,0 ml larutan ke dalam labu iodum 250 ml, tambahkan 3 g kalium iodida P dan 3 ml asam klorida P yang sebelumnya sudah diencerkan dengan 10 ml air, tutup segera dan diamkan dalam gelap selama 5 menit. Kemudian tambahkan 50 ml air dingin dan titrasi iodum bebas dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N LV yang baru dibakukan. Mendekati titik akhir titrasi, tambahkan 3 ml larutan indikator kanji LP, lanjutkan titrasi hingga terbentuk kompleks iodum-kanji berwarna biru.

$$M = \frac{\text{ml} \times \text{N}_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}}{\text{ml KIO}_3 \times 6}$$

**Kalium permanganat 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 3,161 g KMnO<sub>4</sub>**  
**(BM 158,03)**

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 3,3 g kalium permanganat P dalam 1000 ml air dalam labu dan dididihkan larutan selama lebih kurang 15 menit. Tutup labu, biarkan selama tidak kurang dari 2 hari, saring melalui penyaring kaca masir berporositas kecil. Jika perlu lapisasi dasar penyaring kaca masir dengan wol kaca.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 200 mg natrium oksalat P, yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 110° hingga bobot tetap dan larutkan dalam 250 ml air. Tambahkan 7 ml asam sulfat P, panaskan hingga suhu lebih kurang 70° dan kemudian tambahkan perlahan-lahan larutan kalium permanganat dari buret sambil diaduk hingga terjadi warna merah muda pucat yang tetap selama 15 detik. Suhu larutan selama titrasi tidak kurang dari 60°.

Tiap ml kalium permanganat 0,1 N setara dengan  
6,700 mg natrium oksalat

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{g Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}{\text{ml larutan KMnO}_4 \times 0,06700}$$

Karena kalium permanganat akan direduksi jika kontak dengan zat organik seperti karet, maka simpan dalam wadah terbuat dari kaca atau bahan lain yang inert. Jika akan digunakan bakukan kembali.

Wadah dan penyimpanan Dalam botol bersumbat kaca, berwarna cokelat tua.

**Larutan baku diklorofenol-indofenol**

*Pembuatan* Timbang 50 mg natrium 2,6-diklorofenol-indofenol P yang telah disimpan dalam desikator di atas kapur tohor, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer tambahkan 50 ml air yang mengandung 42 mg natrium bikarbonat P, kocok kuat sampai larut, tambahkan air hingga 200 ml. Saring ke dalam botol bersumbat kaca berwarna cokelat. Gunakan dalam waktu 3 hari dan lakukan pembakuan sesaat sebelum digunakan.

*Pembakuan* Timbang saksama 50 mg Asam Askorbat BPF1, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml bersumbat kaca, kemudian tambahkan volume asam metafosfat-asetat LP sampai tanda. Segera pindahkan 2,0 ml larutan ke dalam labu Erlenmeyer 50 ml yang berisi 5 ml asam metafosfat-asetat LP dan secara cepat titrasi dengan larutan diklorofenol-indofenol hingga warna merah muda tetap tidak kurang dari 5 detik. Lakukan penetapan blangko dengan mentitrasi 7 ml asam metafosfat-asetat LP ditambah sejumlah volume air setara dengan volume larutan diklorofenol yang digunakan dalam titrasi larutan asam askorbat. Kadar larutan baku dinyatakan dalam kesetaraan, dalam mg asam askorbat.

**Litium metoksida benzena 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 3,798 g CH<sub>3</sub>OLI**  
**(BM 37,97)**

*Pembuatan* Larutkan 600 mg logam litium P yang baru dipotong, dalam 150 ml metanol P, dinginkan labu selama penambahan logam. Setelah reaksi sempurna, tambahkan 850 ml benzena P. Jika larutan berkabut atau terbentuk endapan, tambahkan metanol P secukupnya untuk menjernihkan larutan. Sebaiknya simpan larutan dalam botol yang dihubungkan dengan buret pengalir otomatis, terlindung dari karbon dioksida dan kelembaban.

*Pembakuan* Lakukan titrasi terhadap asam benzoat seperti tertera pada Natrium metoksida toluen 0,1 N.

[Catatan Lakukan pembakuan secara berkala].

**Litium metoksida klorobenzen 0,1 N**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 3,798 g CH<sub>3</sub>OLI**  
**(BM 37,97)**

*Pembuatan* Larutkan 700 mg logam litium P yang baru dipotong dalam 150 ml metanol P, dinginkan labu selama penambahan logam. Setelah reaksi sempurna, tambahkan 850 ml klorobenzen P. Jika larutan berkabut atau terbentuk endapan, tambahkan metanol P secukupnya untuk menjernihkan larutan. Sebaiknya simpan larutan dalam botol yang dihubungkan dengan



buret pengalir otomatis, terlindung dari karbon dioksida dan kelembaban.

*Pembakuan* Lakukan titrasi terhadap asam benzoat seperti tertera pada *Natrium metoksida toluen 0,1 N*. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

[Catatan Lakukan pembakuan secara berkala.]

$$N = \frac{\text{mg asam benzoat}}{121,1 \times \text{litium metoksida (terkoreksi)}}$$

**Natrium hidroksida 1 N**

**Tiap 1000 ml larutan mengandung 40,00 g NaOH (BM 40,00)**

*Pembuatan* Larutkan 162 mg *natrium hidroksida P* dalam 150 ml *air bebas karbon dioksida P*, dinginkan larutan hingga suhu ruang, saring melalui kertas saring yang dikeraskan. Masukkan 54,5 ml filtrat jernih ke dalam wadah poliolefin bertutup rapat dan encerkan dengan *air bebas karbon dioksida P* hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 5 g *kalium biftalat P* yang sebelumnya telah dihaluskan dan dikeringkan pada suhu 120° selama 2 jam dan larutkan dalam 75 ml *air bebas karbon dioksida P*. Tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* dan titrasi dengan larutan natrium hidroksida hingga terjadi warna merah muda yang tetap.

Tiap ml *natrium hidroksida 1 N* setara dengan 204,2 mg *kalium biftalat*

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{g } KHC_8H_4O_4}{0,20423 \times \text{ml larutan NaOH}}$$

[Catatan (1) Larutan alkali hidroksida menyerap karbon dioksida bila kontak dengan udara. Simpan larutan dalam botol bertutup rapat dengan tutup sesuai, yang dilengkapi dengan tabung yang diisi campuran natrium hidroksida dan kapur, sehingga udara yang masuk wadah harus melalui tabung ini, yang akan menyerap karbon dioksida. (2) Buat larutan dengan kadar lebih rendah (seperti 0,1 N, 0,01 N), dengan mengencerkan secara kuantitatif sejumlah volume yang diukur saksama larutan 1 N dengan air bebas karbon dioksida secukupnya hingga diperoleh larutan dengan kadar yang diinginkan. Lakukan pembakuan secara berkala.]

**Natrium hidroksida etanol 0,1 N (BM 40,00)**

*Pembuatan* Ke dalam 250 ml *etanol P* tambahkan 2 ml larutan *natrium hidroksida P 50%*.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 200 mg *asam benzoat P*, larutkan dalam campuran 10 ml

*etanol P* dan 2 ml air. Tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP*, titrasi dengan larutan *natrium hidroksida etanol 0,1 N LV* hingga warna merah muda pucat. Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{mg asam benzoat}}{121,1 \times \text{ml NaOH}}$$

**Natrium metoksida toluen 0,1 N  
Tiap 1000 ml larutan mengandung 5,402 g CH<sub>3</sub>ONa (BM 54,02)**

*Pembuatan* Dinginkan dalam air es, 150 ml *metanol P* dalam labu tentukur 1000-ml dan tambahkan sedikit demi sedikit lebih kurang 2,5 g *natrium P* segar. Jika telah larut, tambahkan *toluen P* hingga 1000 ml, campur. Sebaiknya simpan larutan dalam botol yang dihubungkan ke buret pengalir otomatis, terlindung dari karbon dioksida dan kelembaban.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 400 mg *asam benzoat P*, larutkan dalam 80 ml *dimetilformamida P* dalam labu Erlenmeyer. Tambahkan 3 tetes larutan *biru timol P* (1 dalam 100) dalam *dimetilformamida P* dan titrasi dengan larutan natrium metoksida sampai titik akhir warna biru.

Tiap ml *natrium metoksida 0,1 N* setara dengan 12,21 mg *asam benzoat*

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{mg asam benzoat}}{121,1 \times \text{ml } CH_3ONa \text{ (terkoreksi)}}$$

[Catatan (1) Untuk menghilangkan kekeruhan yang mungkin terjadi pada waktu pengenceran dengan toluen, tambahkan *metanol P* sampai larutan jernih (biasanya 25 hingga 30 ml). (2) Lakukan pembakuan secara berkala.]

**Natrium nitrit 0,1 M  
Tiap 1000 ml larutan mengandung 6,900 g NaNO<sub>2</sub> (BM 69,00)**

*Pembuatan* Larutkan 7,5 g *natrium nitrit P* dalam air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 500 mg *Sulfanilamida BPF1* yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 105° selama 3 jam dan masukkan ke dalam gelas piala yang sesuai. Tambahkan 20 ml *asam klorida P* dan 50 ml air, aduk sampai larut dan dinginkan hingga suhu 15°. Pertahankan suhu pada lebih kurang 15°, titrasi perlahan-lahan dengan larutan natrium nitrit, tempatkan ujung buret di bawah permukaan larutan untuk menghindari oksidasi natrium nitrit oleh udara, aduk larutan hati-hati dengan pengaduk magnetik, tetapi

hindari penarikan udara oleh putaran di bawah permukaan. Gunakan indikator seperti tertera pada masing-masing monografi atau jika digunakan prosedur potensiometrik, gunakan elektroda kalomel-platina atau platina-platina. Pada 1 ml sebelum titik akhir titrasi, tambahkan titran tiap kali 0,1 ml dan biarkan 1 menit diantara penambahan.

Tiap ml natrium nitrit 0,1000 M  
setara dengan 17,22 mg sulfanilamid

Hitung molaritas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{mg sulfanilamid}}{172,22 \times \text{ml NaNO}_2}$$

**Natrium tetrafenilboron 0,02 M**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 6,845 g  $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$   
(BM 342,2)

*Pembuatan* Larutkan sejumlah natrium tetrafenilboron P setara dengan 6,845 g  $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$  dalam air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Pipet masing-masing 75 ml larutan, masukkan ke dalam 2 dua gelas piala berbeda, tambahkan masing-masing 1 ml asam asetat P dan 25 ml air. Pada setiap gelas piala tambahkan 25 ml larutan kalium biftalat P (1 dalam 20) dan diamkan selama 2 jam. Saring salah satu campuran melalui krus penyaring, cuci endapan dengan air dingin. Pindahkan endapan ke dalam wadah, tambahkan 50 ml air, kocok sekali-sekali selama 30 menit, saring, gunakan filtrat sebagai larutan natrium tetrafenilborat jenuh dalam prosedur pembakuan berukut ini. Saring campuran kedua melalui krus penyaring yang telah ditara, cuci endapan tiga kali, tiap kali dengan 5 ml larutan kalium tetrafenilborat jenuh. Keringkan endapan pada suhu 105° selama 1 jam.

Tiap g kalium tetrafenilborat  
setara dengan 955,1 mg natrium tetrafenilboron

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{g kalium tetrafenilborat} \times 0,9551}{342,22 \times 0,075}$$

[Catatan Buat larutan segera sebelum digunakan.]

**Natrium tiosulfat 0,1 N**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 24, 82 g  
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   
(BM 248,19)

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 26 g natrium tiosulfat P dan 200 natrium karbonat P dalam air yang

sebelumnya telah dididihkan dan didinginkan, hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 210 mg kalium bikromat P yang sebelumnya telah dihaluskan dan dikeringkan pada suhu 120° selama 4 jam dan larutkan dengan 100 ml air dalam labu bersumbat kaca 500 ml. Goyang hingga padatan larut, angkat tutup, tambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 g natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Tutup labu, goyang hingga tercampur, biarkan di tempat gelap selama 10 menit. Bilas tutup dan dinding labu sebelah dalam dengan air dan titrasi iodum yang dibebaskan dengan larutan natrium tiosulfat hingga warna hijau kekuningan. Tambahkan 3 ml kanji LP dan lanjutkan titrasi sampai warna biru tepat hilang.

Tiap ml natrium tiosulfat 0,1000 N setara dengan  
4,904 mg kalium bikromat

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{mg K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}{49,04 \times \text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$$

[Catatan Lakukan pembakuan secara berkala.]

**Perak nitrat 0,1 N**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 16,99 g  $\text{AgNO}_3$   
(BM 169,9)

*Pembuatan* Larutkan lebih kurang 17,0 g perak nitrat P dalam air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Timbang saksama lebih kurang 100 mg natrium klorida P yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 110° selama 2 jam, dalam gelas piala 150 ml, larutkan dalam 30 ml air dan tambahkan 5 ml asam asetat P, 50 ml metanol P dan 3 tetes eosin Y LP. Aduk dengan pengaduk magnetik dan titrasi larutan perak nitrat.

Tiap ml perak nitrat 0,1 N  
setara dengan 5,844 mg NaCl

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{mg NaCl}}{58,44 \times \text{ml AgNO}_3}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

**Raksa(II) nitrat 0,02 M**

*Pembuatan* Larutkan 6,85 g raksa(II) nitrat P dalam air yang mengandung 10 ml asam nitrat 2 N dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

Pembakuan Pipet 25 ml larutan, tambahkan 100 mg *jingga xilenol campur P* dan 2 g *heksamin P* dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,02 M LV* hingga terjadi titik akhir warna kuning. Hitung kadar raksa(II) nitrat dalam larutan.

Tiap ml *dinatrium edetat 0,02 M*  
setara dengan 6,493 mg  $Hg(NO_3)_2$

Jika larutan akan digunakan untuk penetapan kadar penisilin, lakukan pembakuan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 15 mg *natrium klorida P*, larutkan dalam 50 ml air dan titrasi dengan larutan raksa(II) nitrat. Tentukan titik akhir titrasi secara potensiometrik menggunakan elektroda indikator raksa atau platina dan elektroda baku raksa-raksa(I) sulfat. Hitung kadar raksa(II) nitrat dalam larutan.

Tiap ml *raksa(II) nitrat 0,02 M*  
setara dengan 2,338 mg  $NaCl$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah terlindung cahaya.

**Serium(IV) amonium nitrat 0,05 N**  
Tiap 100 ml larutan mengandung 2,741 g  
 $Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$   
(BM 548,22)

Pembuatan Larutkan 2,75 g *serium(IV) amonium nitrat P* dalam *asam nitrat 1 N* hingga diperoleh larutan 100 ml dan saring.

Pembakuan Ukur saksama lebih kurang 10 ml *besi(II) amonium sulfat 0,1 N LV* yang baru dibakukan, masukkan ke dalam labu, encerkan dengan air hingga lebih kurang 100 ml. Tambahkan 1 tetes *nitrofenantrolin LP* dan titrasi dengan larutan *serium(IV) amonium nitrat 0,05 N LV* sampai tidak berwarna. Dari volume *besi(II) amonium sulfat 0,1 N LV* yang digunakan, hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \times N Fe(NH_4)_2(SO_4)_2}{ml Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3}$$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah terlindung cahaya.

**Serium(IV) sulfat 0,1 N**  
Tiap 1000 ml larutan mengandung 33,22 g  
 $Ce(SO_4)_2$   
(BM 332,24)

Pembuatan Gunakan larutan standar yang tersedia dalam perdagangan.

Pembakuan Timbang saksama lebih kurang 200 mg *natrium oksalat P* yang sebelumnya telah dikeringkan sesuai yang tertera pada etiket dan larutkan dalam 75 ml

air. Tambahkan sambil diaduk 2 ml *asam sulfat P* yang sebelumnya telah dicampur dengan 5 ml air, tambahkan 10 ml *asam klorida P* dan panaskan pada suhu antara 70° dan 75°. Titrasi dengan *serium(IV) sulfat 0,1 N* hingga terjadi warna kuning muda yang tetap.

Tiap ml *serium(IV) sulfat 0,1 N*  
setara dengan 6,7 g *natrium oksalat*

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{mg Na_2C_2O_4}{67,00 \times ml Ce(SO_4)_2}$$

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah terlindung cahaya.

**Setilpiridinium klorida 0,005 M**

Pembuatan Larutkan 1,8 g *setilpiridinium klorida P* dalam 10 ml *etanol P* dan encerkan dengan air hingga 1000 ml.

Pembakuan Pindahkan 25,0 ml larutan ke dalam corong pisah, tambahkan 25 ml *kloroform P*, 10 ml *nitrofenantrolin hidrokksida 0,01 M* dan 10 ml larutan *kalium iodida P 0,5%* yang dibuat segar. Kocok baik-baik, biarkan memisah dan alirkan lapisan kloroform. Kocok lapisan air lebih lanjut 3 kali tiap kali dengan 10 ml *kloroform P* dan buang lapisan kloroform. Tambahkan 40 ml *asam klorida P*, dinginkan dan titrasi dengan *kalium iodat 0,005 M LV* hingga larutan berwarna coklat muda. Tambahkan 2 ml *kloroform P* dan lanjutkan titrasi, kocok kuat dan biarkan memisah setelah tiap penambahan, hingga lapisan kloroform tidak berwarna. Titrasi campuran 20 ml air, 10 ml larutan *kalium iodida P 0,5%* dan 40 ml *asam klorida P* dengan *kalium iodat 0,005 M LV* dengan cara yang sama. Perbedaan antara titrasi menunjukkan jumlah kalium iodat yang diperlukan.

Tiap ml *kalium iodat 0,005 M*  
setara dengan 3,580 mg *setilpiridinium klorida*,  
 $C_{21}H_{38}ClN.H_2O$ .

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah terlindung cahaya.

**Tembaga (II) sulfat 0,02 M**  
(BM 249,7)

Pembuatan Larutkan 5,0 g *tembaga(II) sulfat P* dalam air dan encerkan hingga 1000 ml.

Pembakuan Pipet 20 ml larutan, tambahkan 2 g *natrium asetat P* dan titrasi dengan *dinatrium edetat 0,02 M LV* menggunakan indikator 0,1 ml larutan *piridilazonaftol P 0,1%* dalam *etanol mutlak P*, hingga

warna larutan berubah dari biru ungu menjadi hijau jasmud. Titrasi perlahan-lahan hingga titik akhir berwarna kuning. Hitung molaritas larutan.

Tiap ml dinatrium edetat 0,02 M  
setara dengan 4,994 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

**Tetrabutylamonium hidroksida 0,1 N**  
Tiap 1000 ml larutan mengandung 25,95 g  
 $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}_2\text{O}$   
(BM 259,47)

*Pembuatan Larutkan 40 g tetra-n-butylamonium iodida P dengan 90 ml metanol mutlak P dalam labu bersumbat kaca. Letakkan labu di dalam tangas es, tambahkan 20 g serbuk perak oksida P, tutup labu, kocok kuat-kuat selama 60 menit. Sentrifus beberapa ml dan uji beningan terhadap iodida seperti tertera pada Uji Identifikasi Umum <291>. Jika reaksi positif, tambahkan lagi 2 g serbuk perak oksida P, biarkan selama 30 menit sambil sesekali dikocok. Jika semua iodida telah bereaksi, saring melalui penyaring kaca masir halus. Bilas labu dan penyaring tiga kali, tiap kali dengan 50 ml toluen anhidrat P. Encerkan dengan campuran toluene anhidrat dan metanol anhidrat P (3:1) hingga 1000 ml. Alirkan gas nitrogen bebas karbon dioksida ke dalam larutan selama 10 menit hingga kering. [Catatan Jika perlu, untuk mendapatkan larutan yang jernih, dapat ditambahkan sedikit metanol anhidrat P.] Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari karbon dioksida dan kelembaban, buang setelah 60 hari. Sebagai pilihan lain, larutan dapat dibuat dengan mengencerkan sejumlah volume sesuai larutan tetrabutylamonium hidroksida yang tersedia dalam perdagangan dalam metanol, dengan campuran 4 volume toluen anhidrat P dan 1 volume metanol anhidrat P. [Catatan Jika perlu, untuk mendapatkan larutan yang jernih, dapat ditambahkan sedikit metanol anhidrat P.]*

*Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari karbon dioksida dan kelembaban, buang setelah 60 hari. Sebagai pilihan lain, larutan dapat dibuat dengan mengencerkan sejumlah volume sesuai larutan tetrabutylamonium hidroksida yang tersedia dalam perdagangan dalam metanol, dengan campuran 4 volume toluen anhidrat P. [Catatan Jika perlu, untuk mendapatkan larutan yang jernih, dapat ditambahkan sedikit metanol anhidrat P.]*

*Pembakuan Lakukan pembakuan segera sebelum digunakan, sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 400 mg asam benzoat P, larutkan dalam 80 ml dimetilformamida P, tambahkan 3 tetes larutan biru timol P dalam dimetilformamida P (1 dalam 100). Titrasi dengan larutan tetrabutylamonium hidroksida hingga terjadi titik akhir warna biru, menggunakan buret*

yang dilengkapi dengan alat penyerap karbon dioksida. Lakukan penetapan blangko.

Tiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 N  
setara dengan 12,21 mg asam benzoat

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{\text{mg asam benzoat}}{121,1 \times \text{ml} (\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{NOH}}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

**Timbal(II) nitrat 0,05 M**  
(BM 331,2)

*Pembuatan Larutkan 16,5 g timbal(II) nitrat P dalam air hingga 1000 ml.*

*Pembakuan Pipet 50 ml larutan, tambahkan 50 mg jingga xilenol campur P dan heksamina P hingga terjadi warna merah muda ungu dan titrasi dengan dinatrium edetat 0,1 M LV hingga terjadi titik akhir warna kuning muda. Hitung molaritas larutan.*

Tiap ml dinatrium edetat 0,1 M setara dengan  
33,12 mg  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

**Titan(III) klorida 0,1 N**  
Tiap 1000 ml larutan mengandung 15,42 g  $\text{TiCl}_3$   
(BM 154,23)

*Pembuatan Tambahkan 75 ml larutan titan(III) klorida P (1 dalam 5) ke dalam 75 ml asam klorida P, encerkan hingga 1000 ml. Lakukan pembakuan menggunakan alat titrasi khusus sebagai berikut:*

*Alat Simpan larutan titan(III) klorida P dalam sistem alat titrasi wadah tertutup, dengan aliran hidrogen. Gunakan labu titrasi 500 ml dan hubungkan dengan alat tutup karet sumbat rapat ke buret titrasi, sisipkan pipa untuk memasukkan karbon dioksida, dan pipa keluaran. Atur pengadukan secara mekanik. Semua sambungan harus kedap udara. Atur hingga hidrogen dan karbon dioksida lewat melalui botol pencuci yang berisi larutan titan(III) klorida P (lebih kurang 1 dalam 50), untuk mengusir oksigen. Jika larutan yang dititrasi harus dipanaskan sebelum atau selama titrasi, hubungkan labu titrasi dengan kondensor refluks melalui sumbat karet.*

*Pembakuan Pipet 40 ml besi(III) amonium sulfat 0,1 N LV ke dalam labu titrasi dan alirkan dengan cepat karbon dioksida P hingga semua udara hilang. Tambahkan larutan titan(III) klorida dari buret sampai mendekati titik akhir (lebih kurang 35 ml), kemudian tambahkan melalui tabung keluaran 5 ml amonium*

tiosianat LP dan lanjutkan titrasi hingga larutan tidak berwarna.

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml \text{ FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \times N \text{ FeNH}_4(\text{SO}_4)_2}{ml \text{ TiCl}_3}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.

**Zink sulfat 0,05 M**  
**Tiap 1000 ml larutan mengandung 14,4 g**  
**ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O**  
**(BM 287,56)**

*Pembuatan* Larutkan 14,4 g zink sulfat P dalam air hingga 1000 ml.

*Pembakuan* Ukur saksama 10 ml *dinatrium edetat* 0,05 M LV, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 125 ml dan tambahkan berturut-turut 10 ml *dapar asam asetatamonium asetat LP*; 50 ml *etanol P* dan 2 ml *ditizon LP*. Titrasi dengan larutan zink sulfat hingga terjadi warna merah muda terang.

Hitung normalitas larutan dengan rumus:

$$N = \frac{ml \text{ natrium edetat} \times M \text{ natrium edetat}}{ml \text{ ZnSO}_4}$$

**Wadah dan penyimpanan** Dalam wadah terlindung cahaya.



# DAFTAR TABEL





**TABEL ALKOHOLOMETRIK**  
**Tabel Bobot Jenis dan Kadar Etanol**

Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara		Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara	
v/v pada 15,56° C	b/b	pada 25° C	pada 15,56° C	b/b	v/v pada 15,56° C	pada 25° C	pada 15,56° C
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
0	0,00	1,0000	1,0000	0	0,00	1,0000	1,0000
1	0,80	0,9985	0,9985	1	1,26	0,9981	0,9981
2	1,59	0,9970	0,9970	2	2,51	0,9963	0,9963
3	2,39	0,9956	0,9956	3	3,76	0,9945	0,9945
4	3,19	0,9941	0,9942	4	5,00	0,9927	0,9928
5	4,00	0,9927	0,9928	5	6,24	0,9911	0,9912
6	4,80	0,9914	0,9915	6	7,48	0,9894	0,9896
7	5,61	0,9901	0,9902	7	8,71	0,9879	0,9881
8	6,42	0,9888	0,9890	8	9,94	0,9863	0,9867
9	7,23	0,9875	0,9878	9	11,17	0,9848	0,9852
10	8,05	0,9862	0,9866	10	12,39	0,9833	0,9839
11	8,86	0,9850	0,9854	11	13,61	0,9818	0,9825
12	9,68	0,9838	0,9843	12	14,83	0,9804	0,9812
13	10,50	0,9826	0,9832	13	16,05	0,9789	0,9799
14	11,32	0,9814	0,9821	14	17,26	0,9776	0,9787
15	12,14	0,9802	0,9810	15	18,47	0,9762	0,9774
16	12,96	0,9790	0,9800	16	19,68	0,9748	0,9763
17	13,79	0,9778	0,9789	17	20,88	0,9734	0,9751
18	14,61	0,9767	0,9779	18	22,08	0,9720	0,9738
19	15,44	0,9756	0,9769	19	23,28	0,9706	0,9726
20	16,27	0,9744	0,9759	20	24,47	0,9692	0,9714
21	17,10	0,9733	0,9749	21	25,66	0,9677	0,9701
22	17,93	0,9721	0,9739	22	26,85	0,9663	0,9688
23	18,77	0,9710	0,9729	23	28,03	0,9648	0,9675
24	19,60	0,9698	0,9719	24	29,21	0,9633	0,9662
25	20,44	0,9685	0,9708	25	30,39	0,9617	0,9648
26	21,29	0,9673	0,9697	26	31,56	0,9601	0,9635
27	22,13	0,9661	0,9687	27	32,72	0,9585	0,9620
28	22,97	0,9648	0,9676	28	33,88	0,9568	0,9605
29	23,82	0,9635	0,9664	29	35,03	0,9551	0,9590
30	24,67	0,9622	0,9653	30	36,18	0,9534	0,9574

Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara		Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara	
v/v pada 15,56° C (1)	b/b (2)	pada 25° C (3)	pada 15,56° C (4)	b/b (5)	v/v pada 15,56° C (6)	pada 25° C (7)	pada 15,56° C (8)
31	25,52	0,9609	0,9641	31	37,32	0,9516	0,9558
32	26,38	0,9595	0,9629	32	38,46	0,9498	0,9541
33	27,24	0,9581	0,9617	33	39,59	0,9480	0,9524
34	28,10	0,9567	0,9604	34	40,72	0,9461	0,9506
35	28,97	0,9552	0,9590	35	41,83	0,9442	0,9488
36	29,84	0,9537	0,9576	36	42,94	0,9422	0,9470
37	30,72	0,9521	0,9562	37	44,05	0,9402	0,9451
38	31,60	0,9506	0,9548	38	45,15	0,9382	0,9432
39	32,48	0,9489	0,9533	39	46,24	0,9362	0,9412
40	33,36	0,9473	0,9517	40	47,33	0,9341	0,9392
41	34,25	0,9456	0,9501	41	48,41	0,9320	0,9372
42	35,15	0,9439	0,9485	42	49,48	0,9299	0,9352
43	36,05	0,9421	0,9469	43	50,55	0,9278	0,9331
44	36,96	0,9403	0,9452	44	51,61	0,9256	0,9310
45	37,87	0,9385	0,9434	45	52,66	0,9235	0,9289
46	38,78	0,9366	0,9417	46	53,71	0,9213	0,9268
47	39,70	0,9348	0,9399	47	54,75	0,9191	0,9246
48	40,62	0,9328	0,9380	48	55,78	0,9169	0,9225
49	41,55	0,9309	0,9361	49	56,81	0,9147	0,9203
50	42,49	0,9289	0,9342	50	57,83	0,9124	0,9181
51	43,43	0,9269	0,9322	51	58,84	0,9102	0,9159
52	44,37	0,9248	0,9302	52	59,85	0,9079	0,9137
53	45,33	0,9228	0,9282	53	60,85	0,9056	0,9114
54	46,28	0,9207	0,9262	54	61,85	0,9033	0,9092
55	47,25	0,9185	0,9241	55	62,84	0,9010	0,9069
56	48,21	0,9164	0,9220	56	63,82	0,8987	0,9046
57	49,19	0,9142	0,9199	57	64,80	0,8964	0,9024
58	50,17	0,9120	0,9177	58	65,77	0,8941	0,9001
59	51,15	0,9098	0,9155	59	66,73	0,8918	0,8978
60	52,15	0,9076	0,9133	60	67,79	0,8895	0,8955

Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara		Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara	
v/v pada 15,56° C	b/b	pada 25° C	pada 15,56° C	b/b	v/v pada 15,56° C	pada 25° C	pada 15,56° C
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
61	53,15	0,9053	0,9111	61	68,64	0,8871	0,8932
62	54,15	0,9030	0,9088	62	69,59	0,8848	0,8909
63	55,17	0,9006	0,9065	63	70,52	0,8824	0,8886
64	56,18	0,8983	0,9042	64	71,46	0,8801	0,8862
65	57,21	0,8959	0,9019	65	72,38	0,8777	0,8839
66	58,24	0,8936	0,8995	66	73,30	0,8753	0,8815
67	59,28	0,8911	0,8972	67	74,21	0,8729	0,8792
68	60,33	0,8887	0,8948	68	75,12	0,8706	0,8768
69	61,38	0,8862	0,8923	69	76,02	0,8682	0,8745
70	62,44	0,8837	0,8899	70	76,91	0,8658	0,8721
71	63,51	0,8812	0,8874	71	77,79	0,8634	0,8697
72	64,59	0,8787	0,8848	72	78,67	0,8609	0,8673
73	65,67	0,8761	0,8823	73	79,54	0,8585	0,8649
74	66,67	0,8735	0,8797	74	80,41	0,8561	0,8625
75	67,87	0,8709	0,8771	75	81,27	0,8537	0,8601
76	68,98	0,8682	0,8745	76	82,12	0,8512	0,8576
77	70,10	0,8655	0,8718	77	82,97	0,8488	0,8552
78	71,23	0,8628	0,8691	78	83,81	0,8463	0,8528
79	72,38	0,8600	0,8664	79	84,64	0,8439	0,8503
80	73,53	0,8572	0,8636	80	85,46	0,8414	0,8479
81	74,69	0,8544	0,8608	81	86,28	0,8389	0,8454
82	75,86	0,8516	0,8580	82	87,08	0,8364	0,8429
83	77,04	0,8487	0,8551	83	87,89	0,8339	0,8404
84	78,23	0,8458	0,8522	84	88,68	0,8314	0,8379
85	79,44	0,8428	0,8493	85	89,46	0,8288	0,8354
86	80,66	0,8397	0,8462	86	90,24	0,8263	0,8328
87	81,90	0,8367	0,8432	87	91,01	0,8237	0,8303
88	83,14	0,8335	0,8401	88	91,77	0,8211	0,8276
89	84,41	0,8303	0,8369	89	92,52	0,8184	0,8250
90	85,69	0,8271	0,8336	90	93,25	0,8158	0,8224

Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara		Persentase C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Bobot Jenis dalam udara	
v/v pada 15,56° C	b/b	pada 25° C	pada 15,56° C	b/b	v/v pada 15,56° C	pada 25° C	pada 15,56° C
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
91	86,99	0,8237	0,8303	91	93,98	0,8131	0,8197
92	88,31	0,8202	0,8268	92	94,70	0,8104	0,8170
93	89,65	0,8167	0,8233	93	95,41	0,8076	0,8142
94	91,03	0,8130	0,8196	94	96,10	0,8048	0,8114
95	92,42	0,8092	0,8158	95	96,79	0,8020	0,8086
96	93,85	0,8053	0,8118	96	97,46	0,7992	0,8057
97	95,32	0,8011	0,8077	97	98,12	0,7962	0,8028
98	96,82	0,7968	0,8033	98	98,76	0,7932	0,7998
99	98,38	0,7921	0,7986	99	99,39	0,7902	0,7967
100	100,00	0,7871	0,7936	100	100,00	0,7871	0,7936

**TABEL BOBOT MOLEKUL  
Rumus dan Bobot Molekul**

*Tabel* berikut mencakup rumus molekul dan bobot molekul dari senyawa secara umum yang digolongkan sebagai bahan kimia dari masing-masing monografi. Sebagai tambahan *Tabel* termasuk rumus molekul dan bobot molekul dari senyawa lain, yang belum terdapat dalam *Tabel* ini, mungkin akan dimasukkan dalam suplemen.

Komisi Internasional Bobot Atom dan keruahan isotop telah memberikan ketidaktentuan dalam harga bobot atom dalam beberapa tahun yang lalu. Tidak dapat ditentukan apakah tingkat informasi dari beberapa ketidaktentuan seharusnya digunakan pada *Tabel Bobot Molekul* farmakope ini. Pada saat ini bobot molekul dalam tabel berikut harus dianggap teliti hingga 4 bagian dalam 10.000 (0,04%) atau lebih tinggi.

Akseroftol	$C_{20}H_{30}O$	286,46
Alfa Tokoferil Asetat	$C_{31}H_{52}O_3$	472,70
Alfa Tokoferol	$C_{29}H_{50}O_2$	430,71
Alopurinol	$C_5H_4N_4O$	136,11
Alprazolam	$C_{17}H_{13}ClN_4$	308,77
Alprenolol Hidroklorida	$C_{15}H_{23}NO_2.HCl$	285,80
Aluminium Hidroksida	$AlOH_3$	78,00
Aluminium Kalium Sulfat	$AlK(SO_4)_2.12H_2O$	474,38
Amantadin Hidroklorida	$C_{10}H_{17}N.HCl$	187,71
Amfetamin Sulfat	$(C_9H_{13}N)_2.H_2O_4$	368,49
Amfoterisin B	$C_{47}H_{73}NO_{17}$	924,09
Amikasin	$C_{22}H_{43}N_5O_{13}$	585,61
Amikasin Sulfat	$C_{22}H_{43}N_5O_{13}.2H_2SO_4$	781,75
Amilorida Hidroklorida	$C_6H_8ClN_7O.HCl.2H_2O$	302,12
Aminofilin	$C_{16}H_{24}N_{10}O_4$	420,43
Amitriptilin Hidroklorida	$C_{20}H_{23}N.HCl$	313,87
Amobarbital	$C_{11}H_{18}N_2O_3$	226,27
Amoksisilin	$C_{16}H_{19}N_3O_5S.3H_2O$	419,45
Amoksisilin Anhidrat	$C_{16}H_{19}N_3O_5S$	365,40
Amoksisilin Natrium	$C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$	387,40
Amoksisilin Sulfat	$(C_9H_{13}N)_2O.H_2SO_4$	368,49
Amonia	$NH_3$	17,03
Amonium Klorida	$NH_4Cl$	53,49
Ampisilin	$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	349,40
Ampisilin Natrium	$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$	371,39
Antazolin Hidroklorida	$C_{17}H_{19}N_3.HCl$	301,82
Antipirin	$C_{11}H_{12}N_2O$	188,23
Apomorfin Hidroklorida	$C_{17}H_{17}NO_2.HCl.H_2O$	312,80
Asam Aminokaproat	$C_6H_{13}NO_2$	131,17

Asam Aminosalisilat	$C_7H_7NO_3$	153,14
Asam Asetat	$C_2H_4O_2$	60,05
Asam Asetilsalisilat	$C_9H_8O_4$	180,16
Asam Askorbat	$C_6H_8O_6$	176,13
Asam Benzoat	$C_7H_6O_2$	122,12
Asam Folat	$C_{19}H_{19}N_7O_6$	441,40
Asam Fosfat	$H_3PO_4$	98,00
Asam Fusidat	$C_{31}H_{48}O_6 \cdot H_2O$	525,70
Asam Klorida	HCl	36,46
Asam Mefenammat	$C_{15}H_{15}NO_2$	241,29
Asam Nalidiksant	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	232,24
Asam Nitrat	$HNO_3$	63,01
Asam Salisilat	$C_7H_6O_3$	138,12
Asam Sitrat	$C_6H_8O_7$	192,12
Asam Sorbat	$C_6H_8O_2$	112,13
Asam Sulfat	$H_2SO_4$	98,07
Asam Tartrat	$C_4H_6O_6$	150,09
Asam Undesilenat	$C_{11}H_{20}O_2$	184,28
Asam Valproat	$C_8H_{16}O_2$	144,21
Asetazolamida	$C_4H_6N_4O_3S_2$	222,24
Asetazolamida Natrium	$C_4H_5N_4NaO_3S_2$	244,22
Asetilkolin Klorida	$C_7H_{16}ClNO_2$	181,66
Asetilsistein	$C_5H_9NO_3S$	163,19
Asetofenazin	$C_{23}H_{29}N_3O_2S$	411,56
Asetofenazin Maleat	$C_{23}H_{29}N_3O_2S \cdot 2C_4H_4O_4$	643,71
Aseton	$C_3H_6O$	58,08
Asiklovir	$C_8H_{11}O_3N_5$	225,21
Atenolol	$C_{14}H_{22}N_2O_3$	266,30
Atropin Sulfat	$(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$	694,84
Azatadin Maleat	$C_{20}H_{22}N_2 \cdot 2C_4H_4O_4$	522,55
Azatioprin	$C_9H_7N_7O_2S$	277,26
Barium Sulfat	$BaSO_4$	233,39
Beklometason Dipropionat	$C_{28}H_{37}ClO_7$	521,05
Benzetonium Klorida	$C_{27}H_{42}ClNO_2$	448,09
Benzil Alkohol	$C_7H_8O$	108,14
Benzil Benzoat	$C_{14}H_{12}O_2$	212,25
Benzoil Peroksida Hidrat	$C_{14}H_{10}O_4$	242,23

Benzokain	$C_9H_{11}NO_2$	165,19
Betametason	$C_{22}H_{29}FO_5$	392,47
Betametason Dipropionat	$C_{28}H_{37}FO_7$	504,59
Betametason Natrium Fosfat	$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$	516,41
Betametason Valerat	$C_{27}H_{37}FO_6$	476,58
Biru Metilen	$C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$	373,90
Bisakodil	$C_{22}H_{19}NO_4$	361,40
Bismut Subgalat	$C_7H_5BiO_6$	394,09
Bismut Subnitrat	$4Bi(OH)_2NO_3 \cdot BiOOH$	1461,99
Bromfeniramin Maleat	$C_{16}H_{19}BrN_2$	319,24
Bromokriptin Mesilat	$C_{32}H_{40}BrN_5O_5 \cdot CH_4O_3S$	750,70
Bupivakain Hidroklorida	$C_{18}H_{28}N_2O \cdot HCl \cdot H_2O$	342,91
Busulfan	$C_6H_{14}O_6S_2$	246,29
Butil Hidroksianisol	$C_{11}H_{16}O_2$	180,25
Butil Hidroksitoluen	$C_{15}H_{24}O$	220,35
Butilparaben	$C_{11}H_{14}O_3$	194,23
Daktinomisin	$C_{62}H_{86}N_{12}O_{16}$	1255,43
Dapson	$C_{12}H_{12}N_2O_2S$	248,30
Daunorubisin Hidroklorida	$C_{27}H_{29}NO_{10} \cdot HCl$	563,99
Deferoksamin Mesilat	$C_{25}H_{48}N_6O_8 \cdot CH_4O_3S$	656,79
Deksametason	$C_{22}H_{29}FO_5$	392,47
Deksametason Asetat	$C_{24}H_{31}FO_6 \cdot H_2O$	452,52
Deksametason Natrium Fosfat	$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$	516,41
Deksibromfeniramin Maleat	$C_{16}H_{19}BRN_2 \cdot C_4H_4O_4$	435,32
Deksklorfeniramin Maleat	$C_{16}H_{19}CLN_2 \cdot C_4H_4O_4$	390,87
Dekspantenol	$C_9H_{19}NO_4$	205,25
Dekstrometorfan	$C_{18}H_{25}NO$	271,40
Dekstrometorfan Hidrobromida	$C_{18}H_{25}NO \cdot HBR \cdot H_2O$	370,33
Dekstrosa	$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$	198,17
Dekualinium Klorida	$C_{30}H_{40}CL_2N_4$	527,60
Demeklosiklin Hidroklorida	$C_{21}H_{21}CLN_2O_8 \cdot HCL$	501,32
Deslanosida	$C_{47}H_{74}O_{19}$	943,09
Desoksimetason	$C_{22}H_{29}FO_4$	376,47
Diazepam	$C_{16}H_{13}CLN_2O$	284,75
Dibukain Hidroklorida	$C_{20}H_{29}N_3O_2 \cdot HCL$	379,93
Didrogesteron	$C_{21}H_{28}O_2$	312,45
Dietilkarbamazin Sitrat	$C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$	391,42

Dietilstilbestrol	$C_{18}H_{20}O_2$	268,35
Difenhidramin Hidroklorida	$C_{17}H_{21}NO.HCL$	291,82
Difenoksilat Hidroklorida	$C_{30}H_{32}N_2O_2.HCl$	489,06
Digitoksin	$C_{41}H_{64}O_{13}$	764,95
Digoksin	$C_{41}H_{64}O_{14}$	780,95
Dihidroergotamin Mesilat	$C_{33}H_{37}N_5O_5.CH_4O_3S$	679,79
Dihidrostreptomisin Sulfat	$(C_{21}H_{41}N_7O_{12})_2.3H_2SO_4$	1461,41
Diklosasilin Natrium	$C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S.H_2O$	510,32
Dikumarol	$C_{19}H_{12}O_6$	336,30
Diltiazem Hidroklorida	$C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCL$	450,98
Dimenhidrinat	$C_{17}H_{21}NO.C_7H_7ClN_4O_2$	469,97
Dimerkaprol	$C_3H_8OS_2$	124,22
Dinatrium Edetat	$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8.2H_2O$	372,24
Dinatrium Etilendiamin Tetraasetat	$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8.2H_2O$	372,24
Dipiridamol	$C_{24}H_{40}N_8O_4$	504,63
Disiklomin Hidroklorida	$C_{19}H_{35}NO_2.HCL$	345,95
Disopiramida	$C_{21}H_{29}N_3O$	339,48
Disopiramida Fosfat	$C_{21}H_{29}N_3O.H_3PO_4$	437,47
Doksisiklin	$C_{22}H_{24}N_2O_8.H_2O$	462,46
Doksisiklin Hiklat	$(C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl)_2.C_2H_6O.H_2O$	1025,89
Doksorubisin Hidroklorida	$C_{27}H_{29}NO_{11}.HCL$	579,99
Dopamin Hidroklorida	$C_8H_{11}NO_2.HCL$	189,64
Droperidol	$C_{22}H_{22}FN_3O_2$	379,43
Edrofonium Klorida	$C_{10}H_{16}ClNO$	201,70
Efedrin	$C_{10}H_{15}NO$	165,23
Efedrin Hidroklorida	$C_{10}H_{15}NO.HCl$	201,70
Efinefrin Bitartrat	$C_9H_{13}NO_3.C_4H_6O_6$	333,29
Ekonazol Nitrat	$C_{18}H_{15}Cl_3N_2O_3.HNO_3$	444,70
Emetin Hidroklorida	$C_{29}H_{40}N_2O_4.2HCl$	553,57
Enfluran	$C_3H_2ClF_5O$	184,49
Ergokalsiferol	$C_{28}H_{44}O$	396,65
Ergometrin Maleat	$C_{19}H_{23}N_3O_2.C_4H_4O_4$	441,48
Ergotamin Tartrat	$(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2.C_4H_6O_6$	1313,43
Eritromisin	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	733,94
Eritromisin Etilsuksinat	$C_{43}H_{75}NO_{16}$	862,06
Eritromisin Stearat	$C_{37}H_{67}NO_{13}.C_{18}H_{36}O_2$	1018,42
Estradiol	$C_{18}H_{24}O_2$	272,39



Estradiol Benzoat	$C_{25}H_{28}O_3$	376,50
Estradiol Sipionat	$C_{26}H_{36}O_3$	396,57
Estriol	$C_{18}H_{24}O_3$	288,39
Etakridin Laktat	$C_{18}H_{21}N_3O_4 \cdot H_2O$	361,41
Etambutol Hidroklorida	$C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$	277,33
Etanol	$C_2H_6O$	46,07
Etenzamida	$C_9H_{11}NO_2$	165,19
Eter	$C_4H_{10}O$	74,12
Etilestrenol	$C_{20}H_{32}O$	288,50
Etil Klorida	$C_2H_5Cl$	64,51
Etilmorfin Hidroklorida	$C_{19}H_{23}NO_3 \cdot HCl \cdot 2H_2O$	385,90
Etilparaben	$C_9H_{10}O_3$	166,18
Etinil Estradiol	$C_{20}H_{24}O_2$	296,41
Etisteron	$C_{21}H_{28}O_2$	312,45
Etoksibenzamida	$C_9H_{11}NO_2$	165,19
Etosuksimida	$C_7H_{11}NO_2$	141,17
Eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	164,20
Fenazopiridin Hidroklorida	$C_{11}H_{11}N_5 \cdot HCl$	249,70
Fenfluramin Hidroklorida	$C_{12}H_{16}F_3N \cdot HCl$	267,70
Fenilbutazon	$C_{19}H_{20}N_2O_2$	308,38
Fenilefrin Hidroklorida	$C_9H_{13}NO_2 \cdot HCl$	203,67
Fenilmerkuri Asetat	$C_8H_8HgO_2$	336,74
Fenilmerkuri Nitrat	$C_6H_5HgNO_3$	339,7
Fenilpropanolamin Hidroklorida	$C_9H_{13}NO \cdot HCl$	187,67
Feniramin Maleat	$C_{16}H_{20}N_2 \cdot C_4H_4O_4$	356,5
Fenitoin	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	252,27
Fenitoin Natrium	$C_{15}H_{11}N_2NaO_2$	274,25
Fenobarbital	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	232,24
Fenobarbital Natrium	$C_{12}H_{11}NN_2aO_3$	254,22
Fenol	$C_6H_6O$	94,11
Fenolftalin	$C_{20}H_{14}O_4$	318,33
Fenoterol Hidrobromida	$C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr$	384,30
Fentanil Sitrat	$C_{22}H_{28}N_2O \cdot C_6H_8O_7$	528,60
Ferro Fumarat	$C_4H_2FeO_4$	169,90
Ferro Glukonat	$C_{12}H_{22}FeO_{14} \cdot 2H_2O$	482,17
Ferro Sulfat	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	278,01
Fitonadion	$C_{31}H_{46}O_2$	450,70

Flouresein Natrium	$C_{20}H_{10}Na_2O_5$	376,28
Fludrokortison Asetat	$C_{23}H_{31}FO_6$	422,49
Flufenazin Dekanoat	$C_{32}H_{44}F_3N_3O_2S$	591,77
Flufenazin Enantat	$C_{29}H_{38}F_3N_3O_2S$	549,69
Flufenazin Hidroklorida	$C_{22}H_{26}F_3N_3OS \cdot 2HCl$	510,44
Flukloksasilin Natrium	$C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S \cdot H_2O$	493,90
Fluklorolon Asetonida	$C_{24}H_{29}Cl_2FO_5$	487,40
Fluokortolon Heksanoat	$C_{28}H_{39}FO_5$	474,60
Fluokortolon Pivalat	$C_{27}H_{37}FO_5$	460,60
Fluoksimesteron	$C_{20}H_{29}FO_3$	336,45
Fluorourasil	$C_4H_3FN_2O_2$	130,08
Flurazepam Hidroklorida	$C_{21}H_{23}ClFN_3O \cdot 2HCl$	460,81
Flurbiprofen Natrium	$C_{15}H_{12}FNaO_2 \cdot 2H_2O$	302,28
Fluosinolon Asetonida	$C_{24}H_{30}F_2O_6$	452,49
Furosemda	$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$	330,74
Gemfibrozil	$C_{15}H_{22}O_3$	250,34
Gentian Violet	$C_{25}H_{30}ClN_3$	407,99
Glibenklamida	$C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$	494,00
Gliserin	$C_3H_8O_3$	92,09
Glisin	$C_2H_5NO_2$	75,07
Glutetimida	$C_{13}H_{15}NO_2$	217,27
Griseofulvin	$C_{17}H_{17}ClO_6$	352,77
Guaifenesin	$C_{10}H_{14}O_4$	198,22
Haloperidol	$C_{21}H_{23}ClFNO_2$	375,87
Halotan	$C_2HBrClF_3$	197,38
Halsinonida	$C_{24}H_{32}ClFO_5$	454,97
Heksaklorofen	$C_{13}H_6Cl_6O_2$	406,91
Hidralazin Hidroklorida	$C_8H_8N_4 \cdot HCl$	196,64
Hidrogen Peroksida	$H_2O_2$	34,01
Hidroklorotiazida	$C_7H_8ClN_3O_4S_2$	297,73
Hidrokortison	$C_{21}H_{30}O_5$	362,47
Hidrokortison Asetat	$C_{23}H_{32}O_6$	404,50
Hidrokortison Butirat	$C_{25}H_{36}O_6$	432,56
Hidroksiprogesteron Kaproat	$C_{27}H_{40}O_4$	428,61
Hidroksizin Hidroklorida	$C_{21}H_{27}ClN_2O_2 \cdot 2HCl$	447,83
Hidroksokobalamin	$C_{62}H_{89}CON_{13}O_{15}P$	1346,37
Hidrokuinon	$C_6H_6O_2$	110,11

Hiosiamin Sulfat	$(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$	712,85
Hiosin Butilbromida	$C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HBr \cdot 3H_2O$	438,31
Homatropin Hidrobromida	$C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HBr$	352,26
Ibuprofen	$C_{13}H_{18}O_2$	206,28
Idoksuridin	$C_9H_{11}IN_2O_5$	354,10
Imipramin Hidroklorida	$C_{19}H_{24}N_2 \cdot HCl$	316,87
Indometasin	$C_{19}H_{16}ClNO_4$	357,79
Inositol Nikotinat	$C_{42}H_{39}N_6O_{12}$	810,70
Insulin Human	$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$	5807,62
Iodoklorohidroksikuinolin	$C_9H_5ClINO$	305,50
Isoksuprin Hidroklorida	$C_{18}H_{23}NO_3 \cdot HCl$	337,85
Isoniazid	$C_6H_7N_3O$	137,14
Isosorbid Dinitrat	$C_6H_8N_2O_8$	263,14
Kalium Guaiaklosulfonat	$C_7H_7KO_5S \cdot H_2O$	251,29
Kalium Iodida	KI	166,00
Kalium Klavulanat	$C_8H_8KNO_5$	237,25
Kalium Klorida	KCl	74,55
Kalium Permanganat	KMNO <sub>4</sub>	158,03
Kalsium Glukonat	$C_{12}H_{22}CaO_{14}$	430,38
Kalsium Hidrogenfosfat	CaHPO <sub>4</sub>	136,06
Kalsium Hidroksida	Ca(OH) <sub>2</sub>	74,09
Kalsium Karbonat	CaCO <sub>3</sub>	100,09
Kalsium Klorida	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	147,02
Kalsium Laktat	$C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O$	308,30
Kalsium Pantotenat	$C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$	476,54
Kalsium Sulfat	CaSO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	172,17
Kamfor	$C_{10}H_{16}O$	152,24
Kanamisin Sulfat	$C_{18}H_{36}N_4O_{11} \cdot H_2SO_4$	582,58
Kaptopril	$C_9H_{15}NO_3S$	217,28
Karbamazepin	$C_{15}H_{12}N_2O$	236,27
Karbidopa	$C_{10}H_{14}N_2O_4 \cdot H_2O$	244,25
Karbinoksamin Maleat	$C_{16}H_{19}CLN_2O \cdot C_4H_4O_4$	406,87
Karbon Dioksida	CO <sub>2</sub>	44,01
Karisoprodol	$C_{12}H_{24}N_2O_4$	260,33
Ketamin Hidroklorida	$C_{13}H_{16}ClNO \cdot HCl$	274,19
Ketokonazol	$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$	531,44
Ketoprofen	$C_{16}H_{14}O_3$	254,30

Klemastin Fumarat	$C_{21}H_{26}ClNO \cdot C_4H_4O_4$	459,97
Klidinium Bromida	$C_{22}H_{26}BrNO_3$	432,36
Klindamisin Fosfat	$C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$	504,96
Klindamisin Hidroklorida	$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S \cdot HCl$	461,44
Klindamisin Palmitat Hidroklorida	$C_{34}H_{63}ClN_2O_6S \cdot HCl$	699,86
Kliokuinol	$C_9H_5ClNO$	305,50
Klofazimin	$C_{27}H_{22}Cl_2N_4$	473,40
Kloksasilin Natrium	$C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S \cdot H_2O$	475,88
Klomifen Sitrat	$C_{26}H_{28}ClNO \cdot C_6H_8O_7$	598,09
Klonazepam	$C_{15}H_{10}ClN_3O_3$	315,72
Klonidin Hidroklorida	$C_9H_9Cl_2N_3 \cdot HCl$	266,56
Kloral Hidrat	$C_2H_3Cl_3O_2$	165,40
Kloramfenikol	$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$	323,13
Kloramfenikol Natrium Suksinat	$C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$	445,19
Kloramfenikol Palmitat	$C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$	561,54
Klorbutol	$C_4H_7Cl_3O$	177,46
Klordiazepoksida	$C_{16}H_{14}ClN_3O$	299,76
Klordiazepoksida Hidroklorida	$C_{16}H_{14}ClN_3O \cdot HCl$	336,22
Klorfeniramin Maleat	$C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$	390,87
Klorheksidin Asetat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,60
Klorheksidin Glukonat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,77
Klorheksidin Hidroklorida	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,40
Kloroform	$CHCl_3$	119,38
Klorokresol	$C_7H_7ClO$	142,58
Klorokuin	$C_{18}H_{26}ClN_3$	319,88
Klorokuin Fosfat	$C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$	515,87
Klorokuin Sulfat	$C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$	436,00
Klorpromazin Hidroklorida	$C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$	355,32
Klorpropamida	$C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$	276,74
Klortalidon	$C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$	338,76
Klorzoksazon	$C_7H_4ClNO_2$	169,57
Klotrimazol	$C_{22}H_{17}ClN_2$	344,84
Kodein	$C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_2O$	317,38
Kodein Fosfat	$C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$	406,37
Kodein Hidroklorida	$C_{18}H_{22}ClNO_3 \cdot 2H_2O$	371,90
Kofein	$C_8H_{10}N_4O_2$	194,19
Kokain Hidroklorida	$C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HCl$	339,82

Kolekalsiferol	$C_{27}H_{44}O$	384,64
Kolkisin	$C_{22}H_{25}NO_6$	399,44
Kortison Asetat	$C_{23}H_{30}O_6$	402,49
Kresol	$C_7H_8O$	108,14
Kuinidin Sulfat	$(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$	782,95
Kuinin Etilkarbonat	$C_{23}H_{28}N_2O_4$	396,49
Kuinin Hidroklorida	$C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl \cdot 2H_2O$	396,90
Kuinin Sulfat	$(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$	782,95
Laktosa	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,30
Lanatosida C	$C_{49}H_{76}O_{20}$	985,13
Levamisol Hidroklorida	$C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCl$	240,75
Levodopa	$C_9H_{11}NO_4$	197,19
Levonorgestrel	$C_{21}H_{28}O_2$	312,45
Levotiroksin Natrium	$C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$	798,86
Lidokain Hidroklorida	$C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl \cdot H_2O$	288,82
Lindan	$C_6H_6Cl_6$	290,83
Linkomisin Hidroklorida	$C_{18}H_{34}N_2O_6S \cdot HCl \cdot 2H_2O$	461,01
Linoestrenol	$C_{20}H_{28}O$	284,40
Lisin Asetat	$C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_2H_4O_2$	206,24
Loperamid Hidroklorida	$C_{29}H_{33}ClN_2O_2 \cdot HCl$	513,51
Lorazepam	$C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$	321,16
Magnesium Hidroksida	$Mg(OH)_2$	58,32
Magnesium Oksida	$MgO$	40,30
Magnesium Stearat	$C_{36}H_{70}MgO_4$	591,25
Magnesium Sulfat	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	246,47
Magnesium Trisilikat	$Mg_2Si_3O_8$	260,86
Mangan Sulfat	$MnSO_4 \cdot H_2O$	169,01
Manitol	$C_6H_{14}O_6$	182,17
Maprotilin Hidroklorida	$C_{20}H_{23}N \cdot HCl$	313,87
Mebendazol	$C_{16}H_{13}N_3O_3$	295,30
Medazepam	$C_{16}H_{15}ClN_2$	270,80
Medroksiprogesteron Asetat	$C_{24}H_{34}O_4$	386,53
Meksiletin Hidroklorida	$C_{11}H_{17}NO \cdot HCl$	215,72
Melfalan	$C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$	305,20
Menadion	$C_{11}H_{18}O_2$	172,18
Menadion Natrium Bisulfit	$C_{11}H_8O_2 \cdot NaHSO_3 \cdot 3H_2O$	330,28
Mentol	$C_{10}H_{20}O$	156,27

Mepiramin Maleat	$C_{17}H_{23}N_3O \cdot C_4H_4O_4$	401,46
Meprobamat	$C_{19}H_{18}N_2O_4$	218,25
Merkaptopurin	$C_5H_4N_4S \cdot H_2O$	170,19
Mestranol	$C_{21}H_{26}O_2$	310,44
Metadon Hidroklorida	$C_{21}H_{27}NO \cdot HCl$	345,91
Metampiron	$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$	351,37
Metaproterenol Sulfat	$(C_{11}H_{17}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$	520,59
Metenamin	$C_6H_{12}N_4$	140,19
Metenamin Mandelat	$C_6H_{12}N_4 \cdot C_8H_8O_3$	292,34
Metformin Hidroklorida	$C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$	165,60
Metildopa	$C_{10}H_{13}NO_4 \cdot H_2O$	238,24
Metilergometrin Maleat	$C_{20}H_{25}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$	455,51
Metilparaben	$C_8H_8O_3$	152,15
Metilprednisolon Asetat	$C_{24}H_{32}O_6$	416,51
Metil Salisilat	$C_8H_8O_3$	152,15
Metiltestosteron	$C_{20}H_{30}O_2$	302,46
Metionin	$C_5H_{11}NO_2S$	149,21
Metoklopramida Hidroklorida	$C_{14}H_{22}ClN_3O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$	354,28
Metoksalen	$C_{12}H_8O_4$	216,19
Metoprolol Tartrat	$(C_{15}H_{25}NO_3)_2 \cdot C_4H_6O_6$	684,82
Metotreksat	$C_{20}H_{22}N_8O_5$	454,44
Metronidazol	$C_6H_9N_3O_3$	171,16
Mikonazol Nitrat	$C_{18}H_{14}Cl_4N_2O \cdot HNO_3$	479,15
Minosiklin Hidroklorida	$C_{23}H_{27}N_3O_7 \cdot HCl$	493,94
Mitomisin	$C_{15}H_{18}N_4O_5$	334,33
Morfin Hidroklorida	$C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl \cdot 3H_2O$	375,90
Morfin Sulfat	$(C_{17}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$	758,83
Nadolol	$C_{17}H_{27}NO_4$	309,41
Nafazolin Hidroklorida	$C_{14}H_{14}N_2 \cdot HCl$	246,74
Nafazolin Nitrat	$C_{14}H_{14}N_2 \cdot HNO_3$	273,30
Nalokson Hidroklorida	$C_{19}H_{21}NO_4 \cdot HCl \cdot 2H_2O$	399,87
Nandrolon Dekanoat	$C_{28}H_{44}O_3$	428,65
Nandrolon Fenpropionat	$C_{27}H_{34}O_3$	406,56
Naproksen	$C_{14}H_{14}O_3$	230,26
Naproksen Natrium	$C_{14}H_{13}NaO_3$	252,24
Natrium Aminosalisilat	$C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$	211,15
Natrium Askorbat	$C_6H_7NaO_6$	198,11

Natrium Benzoat	$C_7H_5NaO_2$	144,11
Natrium Bikarbonat	$NaHCO_3$	84,01
Natrium Borat	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	381,37
Natrium Fluorida	$NaF$	41,99
Natrium Hidroksida	$NaOH$	40,00
Natrium Klorida	$NaCl$	58,44
Natrium Laurilsulfat	$C_{12}H_{25}NaO_4S$	288,38
Natrium Metabisulfat	$Na_2S_2O_5$	190,10
Natrium Nitroprusida	$Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$	297,95
Natrium Salisilat	$C_7H_5NaO_3$	160,10
Natrium Sitrat	$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$	294,10
Natrium Tetraborat	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	381,37
Natrium Tiosulfat	$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	248,17
Neostigmin Bromida	$C_{12}H_{19}BrN_2O_2$	303,20
Neostigmin Metilsulfat	$C_{13}H_{22}N_2O_6S$	334,39
Nifedipin	$C_{17}H_{18}N_2O_6$	346,34
Niketamida	$C_{10}H_{14}N_2O$	178,20
Nikotinamida	$C_6H_6N_2O$	122,10
Nikotinil Alkohol Tartrat	$C_6H_7NO \cdot C_4H_6O_6$	259,20
Nitrazepam	$C_{15}H_{11}N_3O_3$	281,30
Nitrofurantoin	$C_8H_6N_4O_5 \cdot H_2O$	256,17
Nitrogliserin	$C_3H_5N_3O_9$	227,09
Noretindron	$C_{20}H_{26}O_2$	298,42
Norgestrel	$C_{21}H_{28}O_2$	312,45
Nortriptilin Hidroklorida	$C_{19}H_{21}N \cdot HCl$	299,84
Noskapin	$C_{22}H_{23}NO_7$	413,43
Oksifenbutazon	$C_{19}H_{20}N_2O_3 \cdot H_2O$	342,39
Oksigen	$O_2$	32,00
Oksimetazolin Hidroklorida	$C_{16}H_{24}N_2O \cdot HCl$	296,84
Oksitetrasiklin	$C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot 2H_2O$	496,47
Oksitetrasiklin Hidroklorida	$C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$	496,90
Oksitosin	$C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$	1007,17
Oksprenolol Hidroklorida	$C_{15}H_{23}NO_3 \cdot HCl$	301,81
Pankuronium Bromida	$C_{35}H_{60}Br_2N_2O_4$	732,68
Papaverin Hidroklorida	$C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$	375,85
Parasetamol	$C_8H_9NO_2$	151,16
Penisilin G Benzatin	$C_{16}H_{20}N_2 \cdot 2C_{16}H_{18}N_2O_4S \cdot 4H_2O$	981,19

Penisilin G Prokain	$C_{16}H_{20}N_2O_4S.C_{13}H_{20}N_2O_2S.H_2O$	588,72
Penisilin V	$C_{16}H_{18}N_2O_5S$	350,39
Perak Nitrat	$AgNO_3$	169,87
Perfenazin	$C_{21}H_{26}ClN_3OS$	403,97
Petidin Hidroklorida	$C_{15}H_{21}NO_2.HCl$	283,80
Pilokarpin Hidroklorida	$C_{11}H_{16}N_2O_2.HCl$	244,72
Pilokarpin Nitrat	$C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$	271,27
Pindolol	$C_{14}H_{20}N_2O_2$	248,32
Piperazin	$C_4H_{10}N_2$	86,14
Piperazin Adipat	$C_4H_{10}N_2.C_6H_{10}O_4$	232,30
Piperazin Fosfat	$C_4H_{10}N_2.H_3PO_4$	184,13
Piperazin Sitrat	$3C_4H_{10}N_2.2C_6H_8O_7$	642,66
Pirantel Pamoat	$C_{11}H_{14}N_2S.C_{23}H_{16}O_6$	594,68
Pirazinamid	$C_5H_5N_3O$	123,11
Piridoksin Hidroklorida	$C_8H_{11}NO_3.HCl$	205,64
Piridostigmin Bromida	$C_9H_{13}BrN_2O_2$	261,12
Pirimetamin	$C_{12}H_{13}ClN_4$	248,71
Piroksikam	$C_{15}H_{13}N_3O_4S$	331,35
Prazikuantel	$C_{19}H_{24}N_2O_2$	312,41
Prazosin Hidroklorida	$C_{19}H_{21}N_5O_4.HCl$	419,87
Prednisolon	$C_{21}H_{28}O_5$	360,45
Prednisolon Asetat	$C_{23}H_{30}O_6$	402,49
Prednison	$C_{21}H_{26}O_5$	358,43
Primakuin Fosfat	$C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$	455,34
Probenesida	$C_{13}H_{19}NO_4S$	285,36
Progesteron	$C_{21}H_{30}O_2$	314,47
Prokainamida Hidroklorida	$C_{13}H_{21}N_3O.HCl$	271,79
Prokain Hidroklorida	$C_{13}H_{20}N_2O_2.HCl$	272,77
Prometazin Hidroklorida	$C_{17}H_{20}N_2S.HCl$	320,88
Prometazin Teoklat	$C_{17}H_{20}N_2S.C_7H_7ClN_4O_2$	499,00
Propanolol Hidroklorida	$C_{16}H_{21}NO_2.HCl$	295,81
Propantelin Bromida	$C_{23}H_{30}BrNO_3$	448,40
Propilen Glikol	$C_3H_8O_2$	76,09
Propiliodon	$C_{10}H_{11}I_2NO_3$	447,01
Propilparaben	$C_{10}H_{12}O_3$	180,20
Propiltiourasil	$C_7H_{10}N_2OS$	170,23
Pseudoefedrin Hidroklorida	$C_{10}H_{15}NO.HCl$	201,70



Ranitidin Hidroklorida	$C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$	350,87
Reserpin	$C_{33}H_{40}N_2O_9$	608,69
Resorsinol	$C_6H_6O_2$	110,11
Retinol	$C_{20}H_{30}O$	286,46
Riboflavin	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	376,37
Riboflavin Natrium 5-Fosfat	$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P$	478,33
Rifampin	$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$	822,95
Sakarin	$C_7H_5NO_3S$	183,18
Sakarin Natrium	$C_7H_4NNaO_3S.2H_2O$	241,19
Salbutamol	$C_{13}H_{21}NO_3$	239,31
Salbutamol Sulfat	$(C_{13}H_{21}NO_3)_2.H_2SO_4$	576,70
Salisilamida	$C_7H_7NO_2$	137,14
Sefaleksin	$C_{16}H_{17}N_3O_4S.H_2O$	365,40
Sefazolin Natrium	$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$	476,48
Sefoperazon Natrium	$C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$	667,65
Sefradin	$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	349,40
Selenium Sulfida	$SeS_2$	143,08
Setil Alkohol	$C_{16}H_{34}O$	242,44
Setilpiridinium Klorida	$C_{21}H_{38}ClN.H_2O$	358,01
Setrimida	$C_{17}H_{38}BrN$	336,40
Sianokobalamin	$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$	1355,38
Siklofosfamid	$C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P.H_2O$	279,10
Siklosporin	$C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$	1202,63
Simetidin	$C_{10}H_{16}N_6S$	252,34
Siproheptadin Hidroklorida	$C_{21}H_{21}N.HCl.H_2O$	350,89
Sisplatin	$Cl_2H_6N_2Pt$	300,06
Sistein Hidroklorida	$C_3H_7NO_2S.HCl$	157,61
Sitarabin	$C_9H_{13}N_3O_5$	243,22
Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$	182,17
Spironolakton	$C_{24}H_{32}O_4S$	416,57
Stanozolol	$C_{21}H_{32}N_2O$	328,50
Streptomisin Sulfat	$(C_{21}H_{39}N_7O_{12})_2.3H_2SO_4$	1457,38
Strikhnin Nitrat	$C_{21}H_{22}N_2O_2.HNO_3$	397,44
Sukrosa	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,30
Sulfadiazin	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	250,27
Sulfadoksin	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	310,33
Sulfamerazin	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	264,30

Sulfametazin	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	278,33
Sulfametizol	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	270,32
Sulfametoksazol	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	253,28
Sulfasetamida	$C_8H_{10}N_2O_3S$	214,24
Sulfasetamida Natrium	$C_8H_9N_2NaO_3 \cdot H_2O$	254,24
Tamoksifen Sitrat	$C_{26}H_{29}NO \cdot C_6H_8O_7$	563,65
Teofilin	$C_7H_8N_4O_2 \cdot H_2O$	198,18
Terbutalin Sulfat	$(C_{12}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$	548,65
Testosteron Enantas	$C_{26}H_{40}O_3$	400,60
Testosteron Propionat	$C_{22}H_{32}O_3$	344,49
Tetrahidrozolin Hidroklorida	$C_{13}H_{16}N_2 \cdot HCl$	236,74
Tetrakain	$C_{15}H_{24}N_2O_2$	264,37
Tetrakain Hidroklorida	$C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$	300,83
Tetrasiklin	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	444,44
Tetrasiklin Hidroklorida	$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$	480,90
Tiamfenikol	$C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$	356,20
Tiamin Hidroklorida	$C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$	337,27
Tiamin Mononitrat	$C_{12}H_{17}N_5O_4S$	327,36
Timerosal	$C_9H_9HgNaO_2S$	404,81
Timol	$C_{10}H_{14}O$	150,22
Timolol Maleat	$C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$	432,49
Tiokonazol	$C_{16}H_{13}Cl_3N_2OS$	387,71
Tiopental Natrium	$C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$	264,32
Tobramisin	$C_{18}H_{37}N_5O_9$	467,52
Tokoferol	$C_{29}H_{50}O_2$	430,71
Tolbutamida	$C_{12}H_{18}N_2O_3S$	270,35
Tretionin	$C_{20}H_{28}O_2$	300,44
Triamsinolon	$C_{21}H_{27}FO_6$	394,44
Triamsinolon Asetonida	$C_{24}H_{31}FO_6$	434,50
Trifluoperazin Hidroklorida	$C_{21}H_{24}F_3N_3S \cdot 2HCl$	480,42
Triheksifenidil Hidroklorida	$C_{20}H_{31}NO \cdot HCl$	337,93
Trimetoprim	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	290,32
Tripelenamin Hidroklorida	$C_{16}H_{21}N_3 \cdot HCl$	291,82
Tripolidin Hidroklorida	$C_{19}H_{22}N_2 \cdot HCl \cdot H_2O$	332,87
Tropikamida	$C_{17}H_{20}N_2O_2$	284,36
Tubokurarin Klorida	$C_{37}H_{41}ClN_2O_6 \cdot HCl \cdot 5H_2O$	771,73
Vanilin	$C_8H_8O_3$	152,15

Vankomisin Hidroklorida	$C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}.HCl$	1485,73
Verapamil Hidroklorida	$C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$	491,07
Vinblastin sulfat	$C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$	909,06
Vinkristin sulfat	$C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$	923,04
Warfarin Kalium	$C_{19}H_{15}KO_4$	346,42
Warfarin Natrium	$C_{19}H_{15}NaO_4$	330,31
Xilometazolin Hidroklorida	$C_{16}H_{24}N_2.HCl$	280,84
Zink Klorida	$ZnCl_2$	136,29
Zink Oksida	$ZnO$	81,38
Zink Sulfat	$ZnSO_4.7H_2O$	287,54
Zink Undesilinat	$C_{22}H_{38}O_4Zn$	431,92

**TABEL KESETARAAN TERMOMETRIK**

**Skala Fahrenheit ke Celcius**

$$(^{\circ}F - 32) \times \frac{5}{9} = ^{\circ}C$$

$^{\circ}F$	$^{\circ}C$	$^{\circ}F$	$^{\circ}C$	$^{\circ}F$	$^{\circ}C$	$^{\circ}F$	$^{\circ}C$	$^{\circ}F$	$^{\circ}C$
0	-17,78	51	10,56	101	38,33	151	66,11	201	93,89
1	-17,22	52	11,11	102	38,89	152	66,67	202	94,44
2	-16,67	53	11,67	103	39,44	153	67,22	203	95,00
3	-16,11	54	12,22	104	40,00	154	67,78	204	95,56
4	-15,56	55	12,78	105	40,56	155	68,33	205	96,11
5	-15,00	56	13,33	106	41,11	156	68,89	206	96,67
6	-14,44	57	13,89	107	41,67	157	69,44	207	97,22
7	-13,89	58	14,44	108	42,22	158	70,00	208	97,78
8	-13,33	59	15,00	109	42,78	159	70,56	209	98,33
9	-12,78	60	15,56	110	43,33	160	71,11	210	98,89
10	-12,22	61	16,11	111	43,89	161	71,67	211	99,44
11	-11,67	62	16,67	112	44,44	162	72,22	212	100,00
12	-11,11	63	17,22	113	45,00	163	72,78	213	100,56
13	-10,56	64	17,78	114	45,56	164	73,33	214	101,11
14	-10	65	18,33	115	46,11	165	73,89	215	101,67
15	-9,44	66	18,89	116	46,67	166	74,44	216	102,22
16	-8,89	67	19,44	117	47,22	167	75,00	217	102,78
17	-8,33	68	20,00	118	47,78	168	75,56	218	103,33
18	-7,78	69	20,56	119	48,33	169	76,11	219	103,89
19	-7,22	70	21,11	120	48,89	170	76,67	220	104,44
20	-6,67	71	21,67	121	49,44	171	77,22	221	105,00
21	-6,11	72	22,22	122	50,00	172	77,78	222	105,56
22	-5,56	73	22,78	123	50,56	173	78,33	223	106,11
23	-5	74	23,33	124	51,11	174	78,89	224	106,67
24	-4,44	75	23,89	125	51,67	175	79,44	225	107,22
25	-3,89	76	24,44	126	52,22	176	80,00	226	107,78
26	-3,33	77	25,00	127	52,78	177	80,56	227	108,33
27	-2,78	78	25,56	128	53,33	178	81,11	228	108,89
28	-2,22	79	26,11	129	53,89	179	81,67	229	109,44
29	-1,67	80	26,67	130	54,44	180	82,22	230	110,00
30	-1,11	81	27,22	131	55,00	181	82,78	231	110,56
31	-0,56	82	27,78	132	55,56	182	83,33	232	111,11
32	0	83	28,33	133	56,11	183	83,89	233	111,67
33	0,56	84	28,89	134	56,67	184	84,44	234	112,22
34	1,11	85	29,44	135	57,22	185	85,00	235	112,78
35	1,67	86	30,00	136	57,78	186	85,56	236	113,33
36	2,22	87	30,56	137	58,33	187	86,11	237	113,89
37	2,78	88	31,11	138	58,89	188	86,67	238	114,44
38	3,33	89	31,67	139	59,44	189	87,22	239	115,00





### TABEL LARUTAN ISOTONIK

Tabel dibawah ini memberikan data untuk pengaturan osmolalitas larutan yang mengandung air, yang akan menjadi isoosmotik dengan larutan isotonik dengan larutan isotonik (natrium klorida 0,9 %) dan oleh karena itu isotonik dengan darah dan air mata. Hal ini dapat dicapai dengan menggunakan metode penurunan titik beku atau metode kesetaraan natrium klorida. Angka penurunan titik beku ditetapkan melalui percobaan dan dipublikasikan. Nilai kesetaraan natrium klorida telah dihitung dari data ini.

Angka sebelah atas yang tercantum untuk tiap zat kimia adalah kesetaraan natrium klorida. Angka kedua, yang dicetak miring adalah angka penurunan titik beku dalam derajat celcius. Presentase kadar (b/v) pada isotonisitas diberikan dalam cetak tebal pada kolom terakhir

Menggunakan metode penurunan titik beku larutan isotonik dibuat dengan perbandingan harga penurunan titik beku dari natrium klorida 0,9 % yang diterima adalah 0,52. Angka penurunan titik beku merupakan tambahan dalam rentang kadar ini, oleh karena itu, membuat larutan dapar HEPES 2 % isotonik dengan air mata, menggunakan perhitungan sebagai berikut:

Penurunan titik beku larutan isotonik	0,52
Penurunan titik beku HEPES 2 % dari tabel	0,163
Perbedaan yang diberikan oleh natrium klorida	0,357

NaCl 0,9 % mempunyai penurunan titik beku 0,52;  
NaCl x % mempunyai penurunan titik beku 0,357 oleh karena itu :

$$\frac{x}{0,9} = \frac{0,357}{0,52}$$
$$x = 0,618$$

Jadi 618 mg/100 ml NaCl digabung dengan 2 g/100 ml HEPES menghasilkan suatu larutan isotonik. [Catatan Jika lebih dari satu komponen dalam larutan penurunan titik beku masing-masing harus ditambahkan bersama sebelum perbedaan harga diperoleh.]

Menggunakan metode kesetaraan natrium klorida larutan dibuat meliputi : mengalikan jumlah gram tiap komponen dihitung terhadap volume dengan kesetaraan natrium klorida dari tabel pada kadar terdekat yang tercantum. Sebagai contoh membuat 60 ml asam borat isotonik 1 % : Tambahkan kesetaraan natrium klorida dari tiap komponen larutan.

60 ml larutan asam borat 1 % (600 mg asam borat x 500 mg kesetaraan natrium klorida) = 300 mg

Hitung jumlah gram natrium klorida yang diperlukan untuk volume yang digunakan (60 ml memerlukan 540 mg) kurangi kesetaraan natrium klorida komponen dari natrium klorida total yang diperlukan (540-300 = 240 mg). Perbedaan adalah jumlah natrium klorida yang harus ditambahkan ke dalam volume khas tersebut.

[Catatan Jika perbedaan kurang dari nol dan larutan telah hipertonik, tidak dapat diatur tanpa mengubah kadar komponen.]

**Kesetaraan Natrium Klorida dan Penurunan Titik Beku (°)  
Untuk Larutan dengan Kadar b/v Tertentu**

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Adenosin fosfat	0,50 0,140°	0,41 0,23°	- -	- -	- -	-	
Adifenin hidroklorida	0,28 0,083°	0,22 0,12°	0,17 0,19°	0,15 0,25°	0,12 0,34°	-	
Adrenalon hidroklorida	0,30 0,086°	0,27 0,15°	0,24 0,27°	0,22 0,38°	-	0,21 0,52°	4,24% 4,24%
Akriflavin	0,10 0,025°	0,10 0,05°	0,09 0,10°	0,09 0,15°	-	-	
Alfaprodin hidroklorida	0,19 0,053°	0,19 0,10°	0,18 0,21°	0,18 0,31°	-	0,18 0,52°	4,98% 4,98%
Amantadin hidroklorida	0,31 0,090°	0,31 0,18°	0,31 0,35°	-	-	0,31 0,52°	2,95% 2,95%
Amdinosilin	0,11 0,032°	0,10 0,06°	0,10 0,11°	0,10 0,17°	0,10 0,29°	-	
Amfetamin fosfat	0,38 0,114°	0,34 0,19°	0,30 0,33°	0,27 0,46°	-	0,26 0,52°	3,47% 3,47%
Amfetamin sulfat	0,22 0,066°	0,22 0,12°	0,22 0,25°	0,21 0,37°	-	0,21 0,52°	4,23% 4,23%
Amidoksil benzoat	0,20 0,059°	0,20 0,11°	0,20 0,23°	0,20 0,35°	-	0,20 0,52°	4,42% 4,42%
Amidrikain hidroklorida	0,28 0,080°	0,24 0,13°	0,20 0,23°	0,18 0,31°	0,16 0,46°	0,16 0,52°	5,74% 5,74%
Amidrikain nitrat	0,20 0,058°	0,19 0,10°	0,18 0,19°	0,17 0,28°	0,16 0,46°	0,16 0,52°	5,68% 5,68%
Amikasin	0,06 0,016°	0,05 0,03°	0,05 0,06°	0,05 0,09°	0,05 0,15°	-	
Aminakrin hidroklorida	0,20 0,052°	0,17 0,09°	-	-	-	-	
Aminofilin	0,18 0,056°	0,17 0,10°	-	-	-	-	



Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida							
Zat kimia	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%	Pada kadar Isoosmotik	
Amitriptilin hidroklorida	0,24 0,07°	0,18 0,10°	0,11 0,12°	0,08 0,14°	6,00% 0,17°	- -	
Amobarbital natrium	0,26 0,074°	0,25 0,14°	0,25 0,29°	0,25 0,44°	- -	0,25 0,52°	3,6% 3,6%
Amonium fosfat, dibasa	0,58 0,165°	0,55 0,31°	- -	- -	- -	0,51 0,52°	1,76% 1,76%
Amonium karbonat	0,70 0,202°	0,70 0,40°	- -	- -	- -	0,70 0,52°	1,29% 1,29%
Amonium klorida	1,10 0,315°	- -	- -	- -	- -	1,07 0,52°	0,84% 0,84%
Amonium laktat	0,33 0,093°	0,33 0,18°	0,33 0,37°	- -	- -	0,33 0,52°	2,76% 2,76%
Amonium nitrat	0,69 0,200°	0,69 0,40°	- -	- -	- -	0,69 0,52°	1,30% 1,30%
Amonium sulfat	0,55 0,158°	0,55 0,31°	- -	- -	- -	0,54 0,52	1,68% 1,68%
Ampisilin natrium	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,16 0,18°	0,16 0,27°	0,16 0,45°	0,16 0,52°	5,78% 5,78%
Amprotopin fosfat	0,19 0,058°	0,18 0,10°	0,17 0,19°	0,16 0,28°	0,15 0,44°	- -	
Anilaridin hidroklorida	0,19 0,052°	0,19 0,10°	0,19 0,21°	0,18 0,31°	0,18 0,50°	0,18 0,52°	5,13% 5,13%
Antazolin fosfat	0,20 0,062°	0,20 0,11°	0,18 0,20°	0,17 0,29°	0,15 0,44°	- -	
Antazolin hidroklorida	0,25 0,073°	0,23 0,13°	0,21 0,24°	- -	- -	- -	
Antipirin	0,18 0,050°	0,17 0,09°	0,16 0,17°	0,14 0,25°	0,14 0,39°	0,13 0,52°	6,81% 6,81%
Apomorfin hidroklorida	0,14 0,041°	0,14 0,08°	0,14 0,15°	- -	- -	- -	
Arekolin hidrobromida	0,030 0,084°	0,27 0,15°	0,25 0,28°	0,24 0,41°	- -	0,23 0,52°	3,88% 3,88%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Arginin glutamat	0,17 0,048°	0,17 0,09°	0,17 0,19°	0,17 0,29°	0,17 0,48°	0,17 0,52°	5,37% 5,37%
L-Arginin hidroklorida	0,31 0,087°	0,30 0,17°	0,28 0,32°	0,27 0,46°	- -	0,26 0,52°	3,43% 3,43%
Arsen trioksida	0,30 0,085°	0,30 0,16°	- -	- -	- -	- -	
Asam aminoasetat	0,42 0,119°	0,41 0,23°	0,41 0,47°	- -	- -	0,41 0,52°	2,20% 2,20%
Asam aminokaproat	0,26 0,075°	0,26 0,14°	0,26 0,29°	0,26 0,44°	- -	0,26 0,52°	3,52% 3,52%
Asam askorbat	0,20 0,053°	0,18 0,10°	0,18 0,20°	0,18 0,31°	0,18 0,51°	0,18 0,52°	5,94% 5,94%
Asam borat	0,52 0,146°	0,50 0,28°	- -	- -	- -	0,47 0,52°	1,9% 1,9%
Asam p-aminohipurat	0,13 0,035°	0,13 0,07°	- -	- -	- -	- -	
Asam laktat	0,44 0,124°	0,41 0,23°	0,39 0,45°	- -	- -	0,39 0,52°	2,3% 2,3%
Asam nikotinat	0,26 0,074°	0,25 0,14°	- -	- -	- -	- -	
Asam sitrat	0,18 0,050°	0,18 0,09°	0,17 0,19°	0,17 0,28°	0,16 0,47°	0,16 0,52°	5,52% 5,52%
Asam tanat	0,03 0,009°	0,03 0,01°	0,03 0,03°	0,03 0,05°	0,03 0,08°	- -	
Asam tartrat	0,26 0,075°	0,25 0,14°	0,24 0,27°	0,23 0,40°	- -	0,23 0,52°	3,9% 3,9%
Asetasolamida natrium	0,24 0,068°	0,23 0,13°	0,23 0,27°	0,23 0,40°	- -	0,23 0,52°	3,85% 3,85%
Asetilsistein	0,20 0,055°	0,20 0,11°	0,20 0,22°	0,20 0,34°	- -	0,20 0,52°	4,58% 4,58%
Asetilsulfonamida natrium	0,24 0,066°	0,23 0,13°	0,23 0,26°	0,23 0,40°	- -	0,23 0,52°	3,85% 3,85%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Asiklovir natrium	0,26 0,074°	0,24 0,13°	0,22 0,25°	0,21 0,36°	- -	0,20 0,52°	<b>4,50%</b> <b>4,50%</b>
Atrakurium besilat	0,08 0,019°	0,06 0,03°	0,05 0,05°	0,04 0,07°	0,04 0,10°	- -	
Atropin metilnitrat	0,20 0,055°	0,18 0,10°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	0,14 0,41°	0,14 0,52°	<b>6,52%</b> <b>6,52%</b>
Atropin sulfat	0,14 0,039°	0,13 0,07°	0,12 0,13°	0,11 0,19°	0,11 0,31°	0,10 0,52°	<b>8,85%</b> <b>8,85%</b>
Aurotioglukosa	0,03 0,007°	0,03 0,01°	0,03 0,02°	0,03 0,04°	0,03 0,07°	- -	
Azlosilin natrium	0,15 0,043°	0,13 0,07°	0,12 0,13°	0,11 0,19°	0,11 0,30°	- -	
Barbital natrium	0,32 0,087°	0,30 0,17°	0,29 0,33°	0,29 0,50°	- -	0,29 0,52°	<b>3,12%</b> <b>3,12%</b>
Basitrasin	0,06 0,016°	0,05 0,02°	0,05 0,05°	0,04 0,07°	0,04 0,12°	- -	
Benoksinat hidroklorida	0,20 0,061°	0,18 0,10°	0,15 0,17°	0,14 0,23°	- -	- -	
Benzalkonium klorida	0,18 0,048°	0,16 0,09°	0,15 0,17°	0,14 0,24°	0,13 0,38°	- -	
Benzetonium klorida	0,08 0,022°	0,05 0,02°	0,03 0,03°	0,02 0,04°	0,02 0,05°	- -	
Benzil alkohol	0,18 0,049°	0,17 0,09°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	- -	- -	
Benzilpenisilin natrium	0,18 0,052°	0,18 0,10°	0,17 0,19°	0,16 0,28°	0,16 0,45°	- -	
Benzkuinamida hidroklorida	0,14 0,041°	0,14 0,07°	0,13 0,15°	0,12 0,21°	- -	- -	
Benzpirinium bromida	0,02 0,061°	0,20 0,11°	0,19 0,21°	0,18 0,30°	0,17 0,48°	- -	
Benztropin mesilat	0,26 0,073°	0,21 0,11°	0,15 0,17°	0,12 0,20°	0,09 0,24°	- -	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Besi(III) amonium sitrat, hijau	0,18 <i>0,054°</i>	0,17 <i>0,09°</i>	0,16 <i>0,17°</i>	0,15 <i>0,25°</i>	0,14 <i>0,39°</i>	-	-
Besi(III) kakodilat	0,10 <i>0,023°</i>	0,09 <i>0,04°</i>	0,08 <i>0,09°</i>	-	-	-	-
Besi(II) glukonat	0,16 <i>0,048°</i>	0,15 <i>0,08°</i>	0,14 <i>0,15°</i>	0,12 <i>0,21°</i>	0,11 <i>0,33°</i>	-	-
Betanekol klorida	0,50 <i>0,140°</i>	0,39 <i>0,22°</i>	0,32 <i>0,36°</i>	0,30 <i>0,51°</i>	-	0,30 <i>0,52°</i>	<b>3,05%</b> <b>3,05%</b>
Betaxolol	0,18 <i>0,050°</i>	0,17 <i>0,09°</i>	0,16 <i>0,18°</i>	0,16 <i>0,27°</i>	0,16 <i>0,46°</i>	-	-
Betazol hidroklorida	0,54 <i>0,158°</i>	0,51 <i>0,29°</i>	-	-	-	0,47 <i>0,52°</i>	<b>1,91%</b> <b>1,91%</b>
Biru evan	0,06 <i>0,017°</i>	0,06 <i>0,03°</i>	0,06 <i>0,06°</i>	0,05 <i>0,09°</i>	0,05 <i>0,14°</i>	-	-
Biru tripan	0,26 <i>0,075°</i>	0,26 <i>0,15°</i>	-	-	-	-	-
Bismut kalium tartrat	0,10 <i>0,033°</i>	0,09 <i>0,05°</i>	0,07 <i>0,08°</i>	0,06 <i>0,10°</i>	0,05 <i>0,14°</i>	-	-
Bismut natrium tartrat	0,14 <i>0,041°</i>	0,13 <i>0,07°</i>	0,13 <i>0,13°</i>	0,12 <i>0,19°</i>	0,11 <i>0,31°</i>	0,10 <i>0,52°</i>	<b>8,91%</b> <b>8,91%</b>
Bretilium tosilat	0,16 <i>0,043°</i>	0,14 <i>0,08°</i>	0,13 <i>0,14°</i>	0,12 <i>0,20°</i>	0,11 <i>0,32°</i>	-	-
Bromfeniramin maleat	0,10 <i>0,026°</i>	0,09 <i>0,05°</i>	0,08 <i>0,08°</i>	-	-	-	-
Bromodifenhidramin hidroklorida	0,20 <i>0,067°</i>	0,17 <i>0,10°</i>	0,14 <i>0,16°</i>	0,10 <i>0,18°</i>	0,07 <i>0,20°</i>	-	-
Bupivakain hidroklorida	0,17 <i>0,048°</i>	0,17 <i>0,09°</i>	0,17 <i>0,19°</i>	0,17 <i>0,29°</i>	0,17 <i>0,48°</i>	0,17 <i>0,52°</i>	<b>5,38%</b> <b>5,38%</b>
Butabarbital natrium	0,27 <i>0,078°</i>	0,27 <i>0,15°</i>	0,27 <i>0,31°</i>	0,27 <i>0,47°</i>	-	0,27 <i>0,52°</i>	<b>3,33%</b> <b>3,33%</b>
Butakain sulfat	0,26 <i>0,073°</i>	0,20 <i>0,11°</i>	0,16 <i>0,17°</i>	0,13 <i>0,22°</i>	0,10 <i>0,30°</i>	-	-

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Butetamin format	0,28	0,26	0,24	0,21	-	0,20	4,56%
	0,077°	0,14°	0,26°	0,37°	-	0,52°	4,56%
Butetamin hidroklorida	0,28	0,25	0,22	-	-	-	
	0,079°	0,14°	0,25°	-	-	-	
Deferoksamin mesilat	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	-	
	0,023°	0,04°	0,09°	0,14°	0,24°	-	
Dekametonium bromida	0,29	0,25	0,22	0,20	0,18	0,18	5,0%
	0,084°	0,14°	0,25°	0,35°	0,52°	0,52°	5,0%
Deksametason natrium fosfat	0,18	0,17	0,16	0,15	0,14	0,13	6,75%
	0,050°	0,09°	0,18°	0,26°	0,41°	0,52°	6,75%
Deksklorfeniramin maleat	0,17	0,15	0,14	0,13	0,09	-	
	0,048°	0,08°	0,16°	0,22°	0,26°	-	
Dekspantenol	0,20	0,18	0,17	0,17	0,16	0,16	5,60%
	0,053°	0,10°	0,19°	0,28°	0,46°	0,52°	5,60%
Dekstroamfetamin fosfat	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25	3,62%
	0,072°	0,14°	0,28°	0,43°	-	0,52°	3,62%
Dekstroamfetamin hidroklorida	0,34	0,34	0,34	-	-	0,34	2,64%
	0,097°	0,19°	0,39°	-	-	0,52°	2,64%
Dekstroamfetamin sulfat	0,24	0,23	0,22	0,22	-	0,22	4,16%
	0,069°	0,13°	0,25°	0,38°	-	0,52°	4,16%
Dekstrosa	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	5,51%
	0,045°	0,09°	0,18°	0,27°	0,47°	0,52°	5,51%
Dekstrosa, anhidrat	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,52	5,05%
	0,050°	0,10°	0,20°	0,31°	0,51°	0,52°	5,05%
Demekarium bromida	0,14	0,12	0,10	0,08	0,07	-	
	0,038°	0,06°	0,10°	0,13°	0,19°	-	
Diatrizoat natrium	0,10	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	10,55%
	0,025°	0,04°	0,09°	0,14°	0,24°	0,52°	10,55%
Dibukain hidroklorida	0,14	0,13	0,12	0,11	0,08	-	
	0,040°	0,07°	0,13°	0,18°	0,22°	-	
Dibutolin sulfat	0,18	0,16	0,15	0,15	0,14	-	
	0,049°	0,09°	0,17°	0,25°	0,41°	-	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida						Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%			
Dietanolamin	0,31 0,089°	0,31 0,17°	0,31 0,35°	- -	- -	0,31 0,52°	<b>2,90%</b> <b>2,90%</b>	
Dietilkarbamazin sitrat	0,14 0,042°	0,14 0,08°	0,14 0,16°	0,14 0,24°	0,14 0,41°	0,14 0,52°	<b>6,29%</b> <b>6,29%</b>	
Difemanil metilsulfat	0,16 0,047°	0,15 0,08°	- -	- -	- -	- -		
Difenhidramin hidroklorida	0,34 0,099°	0,27 0,15°	0,22 0,25°	0,20 0,33°	0,17 0,47°	- -		
Difenidol hidroklorida	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,16 0,18°	- -	- -	- -		
Difilin	0,10 0,025°	0,10 0,05°	0,09 0,10°	0,09 0,15°	0,08 0,24°	- -		
Dihidrokodeinona enol asetat hidroklorida	0,15 0,042°	0,14 0,08°	0,13 0,15°	0,13 0,21°	0,12 0,34°	0,12 0,52°	<b>7,76%</b> <b>7,76%</b>	
Dihidrostreptomisin sulfat	0,08 0,017°	0,06 0,03°	0,06 0,05°	0,05 0,08°	0,05 0,13°	0,04 0,52°	<b>21,4%</b> <b>21,4%</b>	
Diklosasilin natrium monohidrat	0,10 0,030°	0,10 0,06°	0,10 0,12°	0,10 0,18°	- -	- -		
Diklomin hidroklorida	0,26 0,073°	0,24 0,13°	0,17 0,19°	- -	- -	- -		
Diklorofenarsin hidroklorida	0,55 0,150°	0,55 0,31°	- -	- -	- -	0,55 0,52°	<b>1,64%</b> <b>1,64%</b>	
Dimetil sulfoksida	0,42 0,122°	0,42 0,24°	0,42 0,48°	- -	- -	0,42 0,52°	<b>2,16%</b> <b>2,16%</b>	
Dimetinden maleat	0,13 0,039°	0,12 0,07°	0,11 0,12°	- -	- -	- -		
Dinatrium edetat	0,24 0,070°	0,23 0,13°	0,22 0,24°	0,21 0,36°	- -	0,20 0,52°	<b>4,44%</b> <b>4,44%</b>	
Dinatrium moksalaktam	0,20 0,054°	0,17 0,09°	0,16 0,17°	0,15 0,25°	0,14 0,41°	- -		
Dinatrium tikarsilin	0,20 0,056°	0,20 0,11°	0,20 0,22°	0,19 0,33°	- -	0,19 0,52°	<b>4,62%</b> <b>4,62%</b>	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida						Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%			
Diperodon hidroklorida	0,15 0,045°	0,14 0,07°	0,13 0,14°	- -	- -	- -		
Dipiron	0,20 0,057°	0,19 0,11°	0,19 0,22°	0,19 0,33°	- -	0,19 0,52°	<b>4,65%</b> <b>4,65%</b>	
Dipivefrin hidroklorida	0,19 0,052°	0,17 0,09°	0,15 0,17°	0,14 0,24°	0,12 0,32°	- -		
Disiklomin hidroklorida	0,18 0,052°	0,18 0,10°	0,17 0,20°	0,17 0,29°	- -	- -		
Dobutamin hidroklorida	0,20 0,053°	0,18 0,10°	0,16 0,18°	- -	- -	- -		
Doksapram hidroklorida	0,12 0,035°	0,12 0,07°	0,12 0,14°	0,12 0,21°	- -	- -		
Doksisiklin hiklat	0,12 0,035°	0,12 0,07°	0,12 0,13°	0,11 0,18°	0,09 0,26°	- -		
Dopamin hidroklorida	0,30 0,085°	0,30 0,17°	0,29 0,33°	0,29 0,50°	- -	0,29 0,52°	<b>3,11%</b> <b>3,11%</b>	
Edrofonium klorida	0,32 0,093°	0,31 0,17°	0,29 0,32°	0,27 0,47°	- -	0,27 0,52°	<b>3,36%</b> <b>3,36%</b>	
Efedrin hidroklorida	0,32 0,087°	0,30 0,16°	0,29 0,33°	0,28 0,48°	- -	0,28 0,52°	<b>3,2%</b> <b>3,2%</b>	
Efedrin laktat	0,28 0,075°	0,26 0,14°	0,25 0,28°	0,24 0,42°	- -	0,24 0,52°	<b>3,72%</b> <b>3,72%</b>	
Efedrin sulfat	0,24 0,070°	0,23 0,13°	0,22 0,24°	0,20 0,35°	- -	0,20 0,52°	<b>4,54%</b> <b>4,54%</b>	
Ekotiopat iodida	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,16 0,17°	- -	- -	- -		
Emetin hidroklorida	0,12 0,033°	0,10 0,06°	0,10 0,11°	0,10 0,17°	0,10 0,27°	- -		
Enkainida hidroklorida	0,16 0,045°	0,15 0,08°	0,14 0,15°	0,11 0,22°	0,10 0,35°	- -		
Epinefrin bitartrat	0,18 0,050°	0,18 0,09°	0,17 0,19°	0,16 0,28°	0,16 0,45°	0,16 0,52°	<b>5,7%</b> <b>5,7%</b>	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida						Pada kadar Isoosmotik
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Epinefrin hidroklorida	0,30 0,088°	0,29 0,16°	0,27 0,31°	0,26 0,45°	- -	0,26 0,52°	3,47% 3,47%
Ergonovin maleat	0,20 0,055°	0,16 0,08°	0,13 0,14°	- -	- -	- -	
Eritromisin glukohptonat	0,08 0,021°	0,07 0,04°	0,07 0,08°	0,07 0,12°	0,07 0,19°	- -	
Eritromisin laktobionat	0,08 0,020°	0,07 0,04°	0,07 0,07°	0,07 0,11°	0,06 0,18°	- -	
Etanol	0,65 0,188°	0,65 0,37°	- -	- -	- -	0,65 0,52°	1,39% 1,39%
Etanol, dehidrat	0,70 0,203°	0,70 0,40°	- -	- -	- -	0,70 0,52°	1,28% 1,28%
Etaverin hidroklorida	0,14 0,037°	0,12 0,07°	- -	- -	- -	- -	
Etidokain hidroklorida	0,18 0,051°	0,18 0,10°	0,18 0,20°	0,18 0,30°	0,18 0,51°	0,18 0,52°	5,08% 5,08%
Etilendiamin	0,46 0,130°	0,44 0,25°	0,43 0,50°	- -	- -	- -	
Etilhidrokuprein hidroklorida	0,22 0,063°	0,17 0,09°	0,13 0,15°	0,11 0,19°	0,09 0,27°	- -	
Etilmorfin hidroklorida	0,16 0,045°	0,16 0,08°	0,15 0,17°	0,15 0,25°	0,15 0,42°	0,15 0,52°	6,18% 6,18%
Etilnorepinefrin hidroklorida	0,36 0,104°	0,32 0,14°	0,29 0,33°	0,28 0,47°	- -	0,27 0,52°	3,32% 3,32%
Fenakain hidroklorida	0,22 0,061°	0,20 0,10°	- -	- -	- -	- -	



Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Fenarson sulfoksilat	0,36 <i>0,104°</i>	0,33 <i>0,19°</i>	0,31 <i>0,35°</i>	0,29 <i>0,50°</i>	- -	0,29 <i>0,52°</i>	<b>3,07%</b> <b>3,07%</b>
Fenilbutazon natrium	0,19 <i>0,054°</i>	0,18 <i>0,10°</i>	0,17 <i>0,20°</i>	0,17 <i>0,29°</i>	0,17 <i>0,48°</i>	0,17 <i>0,52°</i>	<b>5,34%</b> <b>5,34%</b>
Fenilefrin hidroklorida	0,34 <i>0,096°</i>	0,32 <i>0,18°</i>	0,31 <i>0,35°</i>	0,30 <i>0,52°</i>	- -	0,30 <i>0,52°</i>	<b>3,0%</b> <b>3,0%</b>
Fenilefrin tartrat	0,20 <i>0,055°</i>	0,19 <i>0,10°</i>	0,17 <i>0,19°</i>	0,16 <i>0,28°</i>	0,16 <i>0,44°</i>	0,15 <i>0,52°</i>	<b>5,9%</b> <b>5,9%</b>
Feniletil alkohol	0,25 <i>0,070°</i>	0,25 <i>0,14°</i>	0,25 <i>0,28°</i>	- -	- -	- -	
Fenilpropanolamin hidroklorida	0,40 <i>0,117°</i>	0,35 <i>0,21°</i>	0,35 <i>0,40°</i>	- -	- -	0,35 <i>0,52°</i>	<b>2,6%</b> <b>2,6%</b>
Fenilpropilmetilamin hidroklorida	0,42 <i>0,123°</i>	0,38 <i>0,22°</i>	0,34 <i>0,39°</i>	- -	- -	0,33 <i>0,52°</i>	<b>2,7%</b> <b>2,7%</b>
Fenindamin tartrat	0,22 <i>0,064°</i>	0,17 <i>0,10°</i>	0,14 <i>0,15°</i>	0,12 <i>0,20°</i>	0,10 <i>0,28°</i>	- -	
Feniramin maleat	0,18 <i>0,052°</i>	0,16 <i>0,09°</i>	0,15 <i>0,17°</i>	0,14 <i>0,24°</i>	0,13 <i>0,38°</i>	- -	
Fenobarbital natrium	0,24 <i>0,069°</i>	0,24 <i>0,13°</i>	0,23 <i>0,26°</i>	0,23 <i>0,39°</i>	- -	0,23 <i>0,52°</i>	<b>3,95%</b> <b>3,95%</b>
Fenol	0,38 <i>0,104°</i>	0,35 <i>0,19°</i>	0,33 <i>0,38°</i>	- -	- -	0,32 <i>0,52°</i>	<b>2,8%</b> <b>2,8%</b>
Fentolamin mesilat	0,18 <i>0,052°</i>	0,17 <i>0,09°</i>	0,16 <i>0,17°</i>	0,14 <i>0,24°</i>	0,13 <i>0,36°</i>	0,11 <i>0,52°</i>	<b>8,23%</b> <b>8,23%</b>
Fisostigmin salisilat	0,16 <i>0,045°</i>	0,16 <i>0,09°</i>	- -	- -	- -	- -	
Fisostigmin sulfat	0,14 <i>0,040°</i>	0,13 <i>0,07°</i>	0,13 <i>0,14°</i>	0,12 <i>0,21°</i>	0,12 <i>0,34°</i>	0,12 <i>0,52°</i>	<b>7,74%</b> <b>7,74%</b>
Hiosiamin sulfat	0,17 <i>0,048°</i>	0,15 <i>0,08°</i>	0,13 <i>0,14°</i>	0,12 <i>0,20°</i>	0,11 <i>0,31°</i>	- -	
Imipramin hidroklorida	0,20 <i>0,058°</i>	0,20 <i>0,11°</i>	- -	- -	- -	- -	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Indigotindisulfonat natrium	0,30 0,085°	0,30 0,17°	- -	- -	- -	- -	
Iodoftalein natrium	0,20 0,055°	0,17 0,09°	0,14 0,15°	0,12 0,21°	0,11 0,31°	0,09 0,52°	9,58% 9,58%
o-Iodohipurat natrium	0,16 0,047°	0,16 0,09°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	0,15 0,44°	0,15 0,52°	5,92% 5,92%
Iodopiraset	0,12 0,036°	0,11 0,06°	0,11 0,12°	0,11 0,18°	0,10 0,29°	0,10 0,52°	9,21% 9,21%
Iodopiraset dietilamin	0,14 0,035°	0,12 0,06°	0,12 0,13°	0,11 0,19°	0,11 0,30°	0,10 0,52°	8,73% 8,73%
Iopamidol	0,03 0,008°	0,03 0,01°	0,03 0,03°	0,03 0,05°	0,03 0,08°	- -	
Isoetarin hidroklorida	0,24 0,068°	0,23 0,13°	0,22 0,25°	0,21 0,36°	- -	0,21 0,52°	4,27% 4,27%
Isometheptena mukat	0,18 0,048°	0,18 0,09°	0,18 0,19°	0,18 0,30°	- -	0,18 0,52°	4,95% 4,95%
Isoniazid	0,28 0,079°	0,25 0,14°	0,23 0,26°	0,22 0,37°	- -	0,21 0,52°	4,35% 4,35%
Isopropil alkohol	0,53 0,153°	0,53 0,30°	- -	- -	- -	0,53 0,52°	1,71% 1,71%
Isoproterenol sulfat	0,14 0,039°	0,14 0,07°	0,14 0,15°	0,14 0,23°	0,14 0,38°	0,14 0,52°	6,65% 6,65%
Kafein	0,08 0,025°	0,08 0,04°	- -	- -	- -	- -	
Kalium, alum	0,20 0,054°	0,18 0,10°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	0,15 0,41°	0,14 0,52°	6,35% 6,35%
Kalium antimon tartrat	0,22 0,065°	0,18 0,10°	0,15 0,17°	0,13 0,23°	0,10 0,33°	- -	
Kalium asetat	0,59 0,172°	0,59 0,34°	- -	- -	- -	0,59 0,52°	1,53% 1,53%
Kalium benzilpenisilin	0,18 0,052°	0,18 0,10°	0,17 0,19°	0,17 0,29°	0,16 0,47°	0,16 0,52°	5,48% 5,48%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%	Isoosmotik	
Kalium fosfat, anhidrat	0,50	0,46	0,43	-	-	0,43	<b>2,11%</b>
	0,140°	0,26°	0,49°	-	-	0,52°	<b>2,11%</b>
Kalium fosfat, monobasa	0,48	0,44	0,42	-	-	0,41	<b>2,18%</b>
	0,133°	0,25°	0,48°	-	-	0,52°	<b>2,18%</b>
Kalium iodida	0,34	0,34	0,34	-	-	0,34	<b>2,59%</b>
	0,104°	0,20°	0,40°	-	-	0,52°	<b>2,59%</b>
Kalium klorat	0,50	0,49	-	-	-	0,48	<b>1,88%</b>
	0,140°	0,27°	-	-	-	0,52°	<b>1,88%</b>
Kalium klorida	0,76	0,76	-	-	-	0,76	<b>1,19%</b>
	0,219°	0,43°	-	-	-	0,52°	<b>1,19%</b>
Kalium nitrat	0,58	0,56	-	-	-	0,56	<b>1,62%</b>
	0,163°	0,32°	-	-	-	0,52°	<b>1,62%</b>
Kalium permanganat	0,39	0,39	0,39	-	-	-	
	0,112°	0,22°	0,44°	-	-	-	
Kalium sorbat	0,44	0,41	0,40	-	-	0,40	<b>2,23%</b>
	0,125°	0,23°	0,46°	-	-	0,52°	<b>2,23%</b>
Kalium sulfat	0,46	0,44	0,43	-	-	0,43	<b>2,11%</b>
	0,132°	0,25°	0,49°	-	-	0,52°	<b>2,11%</b>
Kalium tiosianat	0,61	0,59	-	-	-	0,59	<b>1,52%</b>
	0,180°	0,34°	-	-	-	0,52°	<b>1,52%</b>
Kalsium probarbital	0,28	0,25	-	-	-	-	
	0,079°	0,14°	-	-	-	-	
Kalsium aminosalisilat	0,30	0,27	0,23	0,21			
	0,091°	0,15°	0,26°	0,36°			
Kalsium dinatrium edetat	0,21	0,21	0,21	0,20	-	0,20	<b>4,50%</b>
	0,061°	0,12°	0,24°	0,35°	-	0,52°	<b>4,50%</b>
Kalsium glukonat	0,18	0,16	0,15	0,14	-	-	
	0,050°	0,09°	0,16°	0,23°	-	-	
Kalsium klorida, anhidrat	0,70	0,70	-	-	-	0,70	<b>1,29%</b>
	0,206°	0,40°	-	-	-	0,52°	<b>1,29%</b>
Kalsium klorida dihidrat	0,50	0,51	-	-	-	0,53	<b>1,70%</b>
	0,145°	0,29°	-	-	-	0,52°	<b>1,70%</b>

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Kalsium klorida heksahidrat	0,34	0,35	0,36	-	-	0,36	2,5%
	0,097°	0,20°	0,41°	-	-	0,52°	2,5%
Kalsium laktat	0,26	0,23	0,22	0,21	-	0,20	4,5%
	0,073°	0,13°	0,25°	0,37°	-	0,52°	4,5%
Kalsium laktobionat	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	-	
	0,022°	0,04°	0,08°	0,12°	0,19°	-	
Kalsium levulinat	0,30	0,27	0,26	0,25	-	-	
	0,080°	0,15°	0,30°	0,44°	-	-	
Kalsium pantotenat	0,20	0,19	0,18	0,17	0,16	0,16	5,6%
	0,055	0,10°	0,20°	0,29°	0,47°	0,52°	5,6%
Kanamisin sulfat	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	-	
	0,021°	0,04°	0,08°	0,12°	0,21°	-	
K apreomisin sulfat	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	-	
	0,011°	0,02°	0,04°	0,06°	0,10°	-	
Karbakol	0,04	0,36	0,34	-	-	0,32	2,82%
	0,108°	0,20°	0,38°	-	-	0,52°	2,82%
Karbazokroma salisilat	0,38	0,36	0,36	-	-	0,35	2,57%
	0,106°	0,21°	0,41°	-	-	0,52°	2,57%
Karbenisilin dinatrium	0,20	0,20	0,20	0,20	-	0,20	4,40%
	0,059°	0,11°	0,23°	0,35°	-	0,52°	4,40%
Karboksimetil selulosa natrium	0,03	0,03	-	-	-	-	
	0,007°	0,01°	-	-	-	-	
Ketamin hidroklorida	0,21	0,21	0,21	0,21	-	0,21	4,29%
	0,061°	0,12°	0,24°	0,36°	-	0,52°	4,29%
Kinakrin hidroklorida	0,20	0,18	0,16	-	-	-	
	0,056°	0,10°	0,17°	-	-	-	
Kinakrin mesilat	0,12	0,11	0,11	0,10	0,10	-	
	0,034°	0,06°	0,12°	0,17°	0,28°	-	
Kinidin glukonat	0,14	0,12	0,11	0,10	-	-	
	0,037°	0,06°	0,12°	0,17°	-	-	
Kinidin sulfat	0,14	0,10	0,08	-	-	-	
	0,041°	0,06°	0,08°	-	-	-	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Kinin bisulfat	0,09 0,029°	0,09 0,05°	0,09 0,10°	0,09 0,15°	- -	- -	
Kinin dihidroklorida	0,26 0,072°	0,23 0,12°	0,20 0,23°	0,19 0,33°	0,18 0,51°	0,18 0,52°	5,07% 5,07%
Kinin hidroklorida	0,16 0,043°	0,14 0,07°	0,13 0,14°	0,11 0,19°	- -	- -	
Kinin urea hidroklorida	0,26 0,073°	0,23 0,13°	0,22 0,25°	0,21 0,37°	- -	0,20 0,52°	4,5% 4,5%
Kiniofon	0,14 0,039°	0,13 0,07°	0,12 0,13°	0,11 0,20°	- -	- -	
Klindamisin fosfat	0,08 0,022°	0,08 0,04°	0,08 0,09°	0,08 0,14°	0,08 0,24°	0,08 0,52°	10,73% 10,73%
Kloramfenikol natrium suksinat	0,14 0,038°	0,14 0,07°	0,14 0,15°	0,13 0,23°	0,13 0,38°	0,13 0,52°	6,38% 6,38%
Kloramin-T	0,24 0,064°	0,23 0,12°	0,22 0,25°	0,22 0,38°	- -	0,22 0,52°	4,1% 4,1%
Klordiazepoksida hidroklorida	0,24 0,068°	0,22 0,12°	0,19 0,22°	0,18 0,31°	0,17 0,48°	0,16 0,52°	5,50% 5,50%
Klorfeniramin maleat	0,18 0,049°	0,17 0,08°	0,14 0,16°	0,12 0,22°	0,09 0,26°	- -	
Klorobutanol, hidrat	0,24 0,071°	- -	- -	- -	- -	- -	
Klorofil	0,14 0,037°	0,10 0,05°	0,08 0,08°	0,06 0,11°	0,05 0,15°	- -	
Klorokin fosfat	0,14 0,039°	0,14 0,08°	0,14 0,16°	0,14 0,24°	0,13 0,37°	0,13 0,52°	7,15% 7,15%
Klorokin sulfat	0,10 0,028°	0,09 0,05°	0,08 0,09°	0,07 0,12°	0,07 0,19°	- -	
2-Kloropropain hidroklorida	0,20 0,054°	0,20 0,10°	0,18 0,21°	- -	- -	- -	
Klorpromazin hidroklorida	0,18 0,052°	0,10 0,05°	0,06 0,06°	0,05 0,07°	0,03 0,10°	- -	
Klorsiklizin hidroklorida	0,24 0,068°	0,17 0,09°	0,12 0,13°	0,09 0,16°	0,07 0,20°	- -	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Klortetrasiklin hidroklorida	0,10 0,030°	0,10 0,06°	0,10 0,12°	- -	- -	- -	
Klortetrasiklin sulfat	0,16 0,047°	0,13 0,07°	0,11 0,12°	0,10 0,17°	- -	- -	
Kodein fosfat	0,14 0,040°	0,14 0,07°	0,13 0,15°	0,13 0,22°	0,13 0,36°	0,12 0,52°	7,29% 7,29%
Kodein hidroklorida	0,16 0,045°	0,15 0,08°	0,15 0,17°	0,15 0,25°	- -	- -	
Kokain hidroklorida	0,16 0,047°	0,16 0,09°	0,16 0,17°	0,15 0,25°	0,14 0,41°	0,14 0,52°	6,33% 6,33%
Kompleks kalsium streptomisin klorida	0,20 0,057°	0,20 0,11°	0,19 0,21°	0,19 0,32°	0,18 0,52°	0,18 0,52°	5,0% 5,0%
Kromolin natrium	0,16 0,046°	0,14 0,08°	0,11 0,12°	0,09 0,14°	0,05 0,15°	- -	
Labetalol hidroklorida	0,20 0,059°	0,19 0,10°	- -	- -	- -	- -	
Laktosa	0,06 0,019°	0,07 0,04°	0,08 0,08°	0,08 0,13°	0,09 0,24°	0,09 0,52°	9,75% 9,75%
Levallorfan tartrat	0,13 0,036°	0,13 0,07°	0,13 0,14°	0,12 0,21°	0,12 0,32°	0,10 0,52°	9,40% 9,40%
Levobunolol hidroklorida	0,12 0,035°	0,12 0,07°	0,12 0,01°	0,12 0,21°	0,12 0,36°	- -	
Levorfanol tartrat	0,12 0,033°	0,12 0,06°	0,12 0,13°	0,12 0,20°	- -	- -	
Liapolat natrium	0,10 0,025°	0,09 0,05°	0,09 0,10°	0,09 0,15°	0,09 0,26°	0,09 0,52°	9,96% 9,96%
Lidokain hidroklorida	0,22 0,065°	0,22 0,12°	0,21 0,24°	0,21 0,35°	- -	0,20 0,52°	4,42% 4,42%
Linkomisin hidroklorida	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,15 0,17°	0,14 0,24°	0,14 0,40°	0,14 0,52°	6,60% 6,60%
Litium karbonat	1,06 0,303°	- -	- -	- -	- -	0,98 0,52°	0,92% 0,92%
Litium klorida	1,40 0,405°	- -	- -	- -	- -	1,40 0,52°	0,65% 0,65%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Lobelin hidroklorida	0,16 0,047°	0,16 0,09°	0,16 0,17°	- -	- -	- -	
Mafenida hidroklorida	0,27 0,075°	0,27 0,15°	0,27 0,30°	0,26 0,44°	- -	0,25 0,52°	3,55% 3,55%
Magnesium klorida	0,48 0,136°	0,45 0,26°	0,45 0,51°	- -	- -	0,45 0,52°	2,02% 2,02%
Magnesium sulfat	0,18 0,049°	0,17 0,09°	0,16 0,17°	0,15 0,26°	0,15 0,41°	0,14 0,52°	6,3% 6,3%
Magnesium sulfat, anhidrat	0,34 0,093°	0,32 0,18°	0,30 0,34°	0,29 0,49°	- -	0,28 0,52°	3,18% 3,18%
Manitol	0,16 0,047°	0,17 0,09°	0,17 0,20°	0,17 0,30°	0,18 0,51°	0,18 0,52°	5,07% 5,07%
Mefenesin	0,19 0,055°	0,19 0,10°	- -	- -	- -	- -	
Mefentermin sulfat	0,24 0,069°	0,22 0,13°	0,21 0,24°	0,20 0,34°	- -	0,19 0,52°	4,74% 4,74%
Menadiol natrium difosfat	0,27 0,078°	0,25 0,14°	0,23 0,26°	0,21 0,37°	- -	- -	
Menadion natrium bisulfit	0,20 0,057°	0,20 0,11°	0,19 0,21°	0,18 0,31°	0,18 0,51°	0,18 0,52°	5,07% 5,07%
Mepivakain hidroklorida	0,21 0,060°	0,21 0,11°	0,20 0,23°	0,20 0,34°	- -	0,20 0,52°	4,6% 4,6%
Merah kongo	0,05 0,015°	0,05 0,03°	0,05 0,05°	0,05 0,09°	0,05 0,15°	- -	
Merbromin	0,16 0,044°	0,14 0,08°	0,12 0,13°	0,11 0,18°	0,09 0,27°	- -	
Merkaptomerin natrium	0,19 0,056°	0,18 0,10°	0,18 0,20°	0,18 0,30°	0,17 0,49°	- -	
Merkurofilin	0,14 0,042°	0,13 0,07°	0,11 0,12°	0,10 0,17°	0,09 0,26°	- -	
Mersalil	0,14 0,041°	0,12 0,06°	0,11 0,12°	0,11 0,18°	0,10 0,29°	0,10 0,52°	9,06% 9,06%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Mesoridazin besilat	0,10 0,024°	0,07 0,04°	0,05 0,05°	0,04 0,07°	0,03 0,08°	- -	
Metadon hidroklorida	0,22 0,060°	0,18 0,10°	0,15 0,17°	0,14 0,23°	0,12 0,34°	0,10 0,52°	<b>8,59%</b> <b>8,59%</b>
Metakolin bromida	0,29 0,087°	0,28 0,16°	0,26 0,29°	0,24 0,42°	- -	0,24 0,52°	<b>3,77%</b> <b>3,77%</b>
Metakolin klorida	0,34 0,099°	0,32 0,18°	0,30 0,38°	0,28 0,49°	- -	0,28 0,52°	<b>3,21%</b> <b>3,21%</b>
Metamfetamin hidroklorida	0,38 0,112°	0,37 0,20°	0,34 0,38°	- -	- -	0,33 0,52°	<b>2,75%</b> <b>2,75%</b>
Metantelin bromida	0,22 0,063°	0,15 0,08°	0,11 0,12°	0,09 0,15°	0,07 0,19°	- -	
Metapirilen hidroklorida	0,20 0,060°	0,19 0,11°	0,18 0,21°	0,18 0,30°	0,17 0,48°	0,17 0,52°	<b>5,35%</b> <b>5,35%</b>
Metaraminol bitartrat	0,20 0,060°	0,20 0,11°	0,19 0,21°	0,18 0,30°	0,17 0,50°	0,17 0,52°	<b>5,17%</b> <b>5,17%</b>
Metdilazin hidroklorida	0,12 0,035°	0,10 0,05°	0,08 0,08°	0,06 0,09°	0,04 0,11°	- -	
Metenamin	0,22 0,061°	0,23 0,12°	0,24 0,27°	0,24 0,41°	- -	0,24 0,52°	<b>3,68%</b> <b>3,68%</b>
Metilglukamin asetrisoat	0,09 0,024°	0,08 0,04°	0,08 0,09°	0,08 0,13°	0,08 0,22°	0,07 0,52°	<b>12,12%</b> <b>12,12%</b>
Metiodal natrium	0,24 0,068°	0,24 0,13°	0,24 0,27°	0,24 0,41°	- -	0,24 0,52°	<b>3,81%</b> <b>3,81%</b>
Metisilin natrium	0,18 0,050°	0,18 0,09°	0,17 0,19°	0,16 0,28°	0,15 0,44°	0,15 0,52°	<b>6,00%</b> <b>6,00%</b>
Metitural natrium	0,26 0,074°	0,25 0,14°	0,24 0,27°	0,23 0,40°	- -	0,23 0,52°	<b>3,85%</b> <b>3,85%</b>
Naepain hidroklorida	0,24 0,067°	0,22 0,12°	0,20 0,23°	0,19 0,33°	- -	0,18 0,52°	<b>4,98%</b> <b>4,98%</b>
Nafazolin hidroklorida	0,30 0,084°	0,27 0,15°	0,25 0,28°	0,24 0,41°	- -	0,22 0,52	<b>3,99%</b> <b>3,99%</b>



Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida						Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%			
Nafsilin natrium	0,14 0,039°	0,14 0,07°	0,14 0,15°	0,13 0,21°	0,10 0,28°	- -		
Nalbufin hidroklorida	0,16 0,045°	0,15 0,08°	0,14 0,15°	- -	- -	- -		
Nalokson hidroklorida	0,14 0,042°	0,14 0,08°	0,14 0,15°	0,13 0,23°	0,13 0,36°	0,11 0,52°	<b>8,07%</b>	<b>8,07%</b>
Nalorfin hidroklorida	0,24 0,070°	0,21 0,12°	0,18 0,21°	0,17 0,28°	0,15 0,43°	0,24 0,52°	<b>6,36%</b>	<b>6,36%</b>
Naltrekson hidroklorida	0,17 0,047°	0,16 0,09°	0,15 0,17°	0,14 0,25°	- -	- -		
Natrium p-aminosalisilat	0,30 0,086°	0,29 0,16°	0,29 0,32°	0,28 0,47°	- -	0,27 0,52°	<b>3,27%</b>	<b>3,27%</b>
Natrium antimon tartrat	0,14 0,039°	0,13 0,07°	0,13 0,14°	0,12 0,20°	0,12 0,33°	0,11 0,52°	<b>7,9%</b>	<b>7,9%</b>
Natrium arsenat, dibasa	0,36 0,074°	0,25 0,14°	0,25 0,27°	0,24 0,41°	- -	0,24 0,52°	<b>3,83%</b>	<b>3,83%</b>
Natrium asetat	0,47 0,136°	0,46 0,26°	0,45 0,51°	- -	- -	0,45 0,52°	<b>2,03%</b>	<b>2,03%</b>
Natrium asetat, anhidrat	0,08 0,226°	0,77 0,44°	- -	- -	- -	0,76 0,52°	<b>1,18%</b>	<b>1,18%</b>
Natrium asetризоат	0,10 0,027°	0,10 0,05°	0,10 0,10°	0,10 0,16°	0,10 0,27°	0,09 0,52°	<b>9,64%</b>	<b>9,64%</b>
Natrium askorbat	0,34 0,097°	0,32 0,18°	0,30 0,35°	- -	- -	0,30 0,52°	<b>2,99%</b>	<b>2,99%</b>
Natrium benzoat	0,40 0,116°	0,40 0,23°	0,40 0,46°	- -	- -	0,40 0,52°	<b>2,25%</b>	<b>2,25%</b>
Natrium bifosfat, anhidrat	0,50 0,142°	0,46 0,26°	0,43 0,49°	- -	- -	0,43 0,52°	<b>2,1%</b>	<b>2,1%</b>
Natrium bifosfat, dihidrat	0,40 0,109°	0,36 0,20°	0,34 0,38°	- -	- -	0,32 0,52°	<b>2,77%</b>	<b>2,77%</b>
Natrium bifosfat monohidrat	0,45 0,128°	0,43 0,24°	0,41 0,47°	- -	- -	0,41 0,52°	<b>2,21%</b>	<b>2,21%</b>

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Natrium bikarbonat	0,68 <i>0,197°</i>	0,65 <i>0,38°</i>	- -	- -	- -	0,65 <i>0,52°</i>	<b>1,39%</b> <b>1,39%</b>
Natrium bismut tioglikolat	0,20 <i>0,055°</i>	0,19 <i>0,10°</i>	0,18 <i>0,20°</i>	0,18 <i>0,30°</i>	0,17 <i>0,49°</i>	0,17 <i>0,52°</i>	<b>5,29%</b> <b>5,29%</b>
Natrium bisulfit	0,64 <i>0,186°</i>	0,61 <i>0,35°</i>	- -	- -	- -	0,60 <i>0,52°</i>	<b>1,5%</b> <b>1,5%</b>
Natrium borat	0,48 <i>0,137°</i>	0,42 <i>0,24°</i>	0,37 <i>0,42°</i>	- -	- -	0,35 <i>0,52°</i>	<b>2,6%</b> <b>2,6%</b>
Natrium bromida	0,58 <i>0,166°</i>	0,58 <i>0,32°</i>	- -	- -	- -	0,57 <i>0,52°</i>	<b>1,6%</b> <b>1,6%</b>
Natrium folat	0,14 <i>0,040°</i>	0,12 <i>0,06°</i>	0,11 <i>0,12°</i>	0,10 <i>0,16°</i>	- -	- -	
Natrium fosfat	0,30 <i>0,086°</i>	0,29 <i>0,16°</i>	0,28 <i>0,32°</i>	0,27 <i>0,47°</i>	- -	0,27 <i>0,52°</i>	<b>3,33%</b> <b>3,33%</b>
Natrium fosfat, dibasa dihidrat	0,44 <i>0,127°</i>	0,42 <i>0,24°</i>	0,41 <i>0,47°</i>	- -	- -	0,40 <i>0,52°</i>	<b>2,23%</b> <b>2,23%</b>
Natrium fosfat, dibasa dodekahidrat	0,24 <i>0,064°</i>	0,22 <i>0,12°</i>	0,21 <i>0,24°</i>	0,21 <i>0,35°</i>	- -	0,20 <i>0,52°</i>	<b>4,45%</b> <b>4,45%</b>
Natrium fosfat, kering	0,56 <i>1,159°</i>	0,53 <i>0,30°</i>	- -	- -	- -	0,51 <i>0,52°</i>	<b>1,75%</b> <b>1,75%</b>
Natrium hipofosfit	0,68 <i>0,190°</i>	0,61 <i>0,35°</i>	- -	- -	- -	- -	
Natrium iodida	0,41 <i>0,113°</i>	0,39 <i>0,22°</i>	0,39 <i>0,44°</i>	- -	- -	0,38 <i>0,52°</i>	<b>2,37%</b> <b>2,37%</b>
Natrium kakodilat	0,38 <i>0,104°</i>	0,32 <i>0,18°</i>	0,30 <i>0,33°</i>	- -	- -	0,27 <i>0,52°</i>	<b>3,3%</b> <b>3,3%</b>
Natrium karbonat, anhidrat	0,74 <i>0,214°</i>	0,70 <i>0,40°</i>	- -	- -	- -	0,68 <i>0,52°</i>	<b>1,32%</b> <b>1,32%</b>
Natrium karbonat, monohidrat	0,64 <i>0,183°</i>	0,60 <i>0,34°</i>	- -	- -	- -	0,58 <i>0,52°</i>	<b>1,56%</b> <b>1,56%</b>
Natrium klorida	1,00 <i>0,289°</i>	- -	- -	- -	- -	1,00 <i>0,52°</i>	<b>0,9%</b> <b>0,9%</b>

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida						Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%			
Natrium kolistimetat	0,16 0,045°	0,15 0,08°	0,14 0,16°	0,14 0,23°	0,13 0,38°	0,13 0,52°	<b>6,85%</b> <b>6,85%</b>	
Natrium laktat	0,58 0,164°	0,55 0,31°	- -	- -	- -	0,52 0,52°	<b>1,72%</b> <b>1,72%</b>	
Natrium lauril sulfat	0,10 0,029°	0,08 0,04°	0,07 0,06°	0,05 0,08°	- -	- -		
Natrium metabisulfit	0,70 0,206°	0,67 0,38°	- -	- -	- -	0,65 0,52°	<b>1,38%</b> <b>1,38%</b>	
Natrium nitrat	0,74 0,214°	0,68 0,39°	- -	- -	- -	0,66 0,52°	<b>1,36%</b> <b>1,36%</b>	
Natrium nitrit	0,86 0,248°	0,84 0,48°	- -	- -	- -	0,83 0,52°	<b>1,08%</b> <b>1,08%</b>	
Natrium nitroferisianida	0,30 0,086°	0,29 0,16°	0,28 0,32°	0,28 0,47°	- -	0,27 0,52°	<b>3,30%</b> <b>3,30%</b>	
Natrium propionat	0,62 0,177°	0,61 0,35°	- -	- -	- -	0,61 0,52°	<b>1,47%</b> <b>1,47%</b>	
Natrium risinoleat	0,10 0,033°	0,10 0,06°	0,10 0,11°	0,09 0,16°	0,09 0,25°	- -		
Natrium salisilat	0,38 0,106°	0,36 0,20°	0,36 0,41°	- -	- -	0,36 0,52°	<b>2,53%</b> <b>2,53%</b>	
Natrium sitrat	0,32 0,091°	0,31 0,17°	0,30 0,34°	0,30 0,51°	- -	0,30 0,52°	<b>3,02%</b> <b>3,02%</b>	
Natrium suksinat	0,32 0,092°	0,32 0,18°	0,31 0,36°	- -	- -	0,31 0,52°	<b>2,9%</b> <b>2,9%</b>	
Natrium sulfat	0,28 0,079°	0,26 0,14°	0,25 0,28°	0,23 0,40°	- -	0,23 0,52°	<b>3,95%</b> <b>3,95%</b>	
Natrium sulfat, anhidrat	0,58 0,165°	0,54 0,30°	- -	- -	- -	0,52 0,52°	<b>1,78%</b> <b>1,78%</b>	
Natrium sulfat, kering	0,72 0,204°	0,65 0,37°	- -	- -	- -	- -		
Natrium tartrat	0,33 0,098°	0,33 0,19°	0,33 0,38°	- -	- -	0,33 0,52°	<b>2,72%</b> <b>2,72%</b>	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Natrium tiosulfat	0,32 0,092°	0,31 0,18°	0,31 0,35°	- -	- -	0,30 0,52°	<b>2,98%</b> <b>2,98%</b>
Neoarsfenamin	0,42 0,116°	0,40 0,22°	0,39 0,44°	- -	- -	0,39 0,52°	<b>2,32%</b> <b>2,32%</b>
Neomisin sulfat	0,14 0,041°	0,12 0,06°	0,10 0,11°	0,09 0,15°	0,08 0,22°	- -	
Neostigmin bromida	0,23 0,065°	0,22 0,12°	0,20 0,23°	0,19 0,33°	- -	- -	
Neostigmin metil sulfat	0,22 0,056°	0,20 0,10°	0,18 0,30°	0,18 0,30°	0,17 0,50°	0,17 0,52°	<b>5,22%</b> <b>5,22%</b>
Netilmisin sulfat	0,09 0,023°	0,07 0,04°	0,06 0,07°	0,06 0,10°	0,06 0,15°	- -	
Niketamida	0,20 0,053°	0,18 0,10°	0,17 0,19°	0,16 0,27°	0,15 0,44°	0,15 0,52°	<b>5,94%</b> <b>5,94%</b>
Nikotinamida	0,30 0,083°	0,26 0,14°	0,23 0,26°	0,21 0,37°	- -	0,20 0,52°	<b>4,49%</b> <b>4,49%</b>
Novobiosin natrium	0,10 0,025°	0,08 0,04°	0,08 0,08°	0,07 0,12°	0,07 0,19°	- -	
Oksasilin natrium	0,18 0,050°	0,17 0,09°	0,16 0,17°	0,15 0,25°	0,14 0,40°	0,14 0,52°	<b>6,64%</b> <b>6,64%</b>
Oksikodon	0,16 0,043°	0,14 0,08°	0,14 0,15°	0,13 0,22°	0,13 0,36°	0,12 0,52°	<b>7,4%</b> <b>7,4%</b>
Oksimetazolin hidroklorida	0,22 0,063°	0,22 0,12°	0,29 0,23°	0,19 0,33°	- -	0,18 0,52°	<b>4,92%</b> <b>4,92%</b>
Oksimorfon hidroklorida	0,16 0,044°	0,16 0,08°	0,15 0,16°	0,14 0,24°	0,13 0,38°	- -	
Oksitetrasiklin hidroklorida	0,17 0,052°	0,14 0,08°	0,11 0,11°	0,08 0,14°	- -	- -	
Oksofenarsin hidroklorida	0,24 0,067°	0,24 0,13°	0,24 0,28°	0,24 0,42°	- -	0,24 0,52°	<b>3,67%</b> <b>3,67%</b>
Oleandomisin fosfat	0,08 0,017°	0,08 0,03°	0,08 0,08°	0,08 0,12°	0,08 0,25°	0,08 0,52°	<b>10,82%</b> <b>10,82%</b>
Orfenadrin sitrat	0,13 0,037°	0,13 0,07°	0,13 0,14°	0,12 0,20°	0,10 0,28°	- -	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Pankuronium bromida	0,16 0,046°	0,13 0,07°	0,11 0,12°	0,10 0,17°	0,10 0,28°	-	-
Papaverin hidroklorida	0,10 0,028°	0,10 0,06°	0,10 0,12°	-	-	-	-
Paraldehida	0,25 0,071°	0,25 0,14°	0,25 0,28°	0,25 0,43°	-	0,25 0,52°	<b>3,65%</b> <b>3,65%</b>
Paretoksikain hidroklorida	0,20 0,058°	0,29 0,16°	-	-	-	-	-
Pargilin hidroklorida	0,30 0,093°	0,29 0,16°	0,29 0,32°	0,28 0,49°	-	0,28 0,52°	<b>3,18%</b> <b>3,18%</b>
Pentazosin laktat	0,15 0,042°	0,15 0,08°	0,15 0,16°	0,15 0,25°	0,15 0,42°	-	-
Pentilenetetrazol	0,24 0,069°	0,22 0,12°	0,21 0,23°	0,19 0,33°	-	0,18 0,52°	<b>4,91%</b> <b>4,91%</b>
Pentobarbital natrium	0,26 0,076°	0,25 0,14°	0,24 0,27°	0,23 0,39°	-	-	-
Pentolinium tartrat	0,18 0,050°	0,17 0,09°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	0,15 0,44°	-	-
Perak nitrat	0,33 0,095°	0,33 0,19°	0,33 0,38°	-	-	0,33 0,52°	<b>2,74%</b> <b>2,74%</b>
Perak protein, kuat	0,12 0,033°	0,08 0,04°	0,06 0,06°	0,05 0,08°	0,04 0,10°	-	-
Perak protein, lemah	0,17 0,047°	0,17 0,09°	0,17 0,18°	0,17 0,28°	0,16 0,47°	0,16 0,52°	<b>5,51%</b> <b>5,51%</b>
Petidin hidroklorida	0,24 0,066°	0,22 0,12°	0,21 0,23°	0,20 0,34°	-	0,19 0,52°	<b>4,8%</b> <b>4,8%</b>
Pilokarpin hidroklorida	0,24 0,069°	0,24 0,13°	0,23 0,26°	0,22 0,38°	-	0,22 0,52°	<b>4,08%</b> <b>4,08%</b>
Pilokarpin nitrat	0,24 0,070°	0,23 0,13°	0,21 0,24°	0,20 0,35°	-	-	-
Piperasilin natrium	0,11 0,032°	0,11 0,06°	0,11 0,12°	0,10 0,17°	-	-	-

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Piperokain hidroklorida	0,22 0,066°	0,21 0,12°	0,19 0,22°	0,19 0,31°	0,17 0,49°	- -	
Piratazin hidroklorida	0,22 0,065°	0,17 0,09°	0,11 0,12°	0,08 0,14°	0,06 0,17°	- -	
Piridokain hidroklorida	0,24 0,072°	0,24 0,13°	- -	- -	- -	- -	
Piridoksin hidroklorida	0,41 0,118°	0,36 0,20°	0,32 0,36°	0,29 0,52°	- -	- -	
Piridostigmin bromida	0,22 0,062°	0,22 0,12°	0,22 0,25°	0,22 0,37°	- -	0,22 0,52	<b>4,13%</b> <b>4,13%</b>
Pirilamin maleat	0,24 0,072°	0,18 0,10°	0,14 0,15°	0,11 0,19°	0,09 0,25°	- -	
Polietilen glikol 300	0,12 0,034°	0,12 0,06°	0,12 0,14°	0,12 0,21°	0,13 0,37°	0,13 0,52°	<b>6,73%</b> <b>6,73%</b>
Polietilen glikol 400	0,08 0,022°	0,08 0,04°	0,09 0,09°	0,09 0,15°	0,09 0,27°	0,11 0,52°	<b>8,50%</b> <b>8,50%</b>
Polietilen glikol 1500	0,06 0,015°	0,06 0,03°	0,07 0,07°	0,07 0,12°	0,07 0,21°	0,09 0,52°	<b>10,00%</b> <b>10,00%</b>
Polietilen glikol 1540	0,02 0,005°	0,02 0,01°	0,02 0,02°	0,03 0,04°	0,03 0,09°	- -	
Polietilen glikol 4000	0,02 0,004°	0,02 0,00°	0,02 0,02°	0,02 0,03°	0,02 0,06°	- -	
Polimiksin B sulfat	0,10 0,033°	0,09 0,04°	0,07 0,07°	0,06 0,09°	0,04 0,13°	- -	
Polisorbat 80	0,02 0,005°	0,02 0,01°	0,02 0,02°	0,02 0,03°	0,02 0,05°	- -	
Polivinil alkohol (99% hidroksilat)	0,02 0,004°	0,02 0,00°	0,02 0,02°	0,02 0,03°	0,03 0,07°	- -	
Povidon	0,01 0,004°	0,01 0,00°	0,01 0,01°	0,01 0,01°	0,01 0,03°	- -	
Pralidoksim klorida	0,32 0,092°	0,32 0,18°	0,32 0,36°	- -	- -	0,32 0,52°	<b>2,87%</b> <b>2,87%</b>

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Pramoksin hidroklorida	0,18 <i>0,056</i>	0,18 <i>0,10°</i>	0,17 <i>0,19°</i>	0,15 <i>0,25°</i>	0,10 <i>0,28°</i>	-	-
Prilokain hidroklorida	0,22 <i>0,062°</i>	0,22 <i>0,12°</i>	0,22 <i>0,25°</i>	0,22 <i>0,37°</i>	-	0,22 <i>0,52°</i>	<b>4,18%</b> <b>4,18%</b>
Probarbital natrium	0,38 <i>0,110°</i>	0,32 <i>0,18°</i>	0,30 <i>0,35°</i>	0,29 <i>0,50°</i>	-	0,29 <i>0,52°</i>	<b>3,1%</b> <b>3,1%</b>
Prokain hidroklorida	0,24 <i>0,065°</i>	0,21 <i>0,12°</i>	0,20 <i>0,22°</i>	0,19 <i>0,32°</i>	0,18 <i>0,51°</i>	0,18 <i>0,52°</i>	<b>5,05%</b> <b>5,05%</b>
Prokainamida hidroklorida	0,24 <i>0,071°</i>	0,22 <i>0,12°</i>	0,20 <i>0,23°</i>	0,19 <i>0,33°</i>	0,17 <i>0,50°</i>	-	-
Proklorperazin edisilat	0,08 <i>0,020°</i>	0,06 <i>0,03°</i>	0,05 <i>0,04°</i>	0,03 <i>0,05°</i>	0,02 <i>0,06°</i>	-	-
Promazin hidroklorida	0,18 <i>0,050°</i>	0,13 <i>0,07°</i>	0,09 <i>0,10°</i>	0,07 <i>0,11°</i>	0,05 <i>0,13°</i>	-	-
Prometazin hidroklorida	0,28 <i>0,084°</i>	0,18 <i>0,11°</i>	0,12 <i>0,15°</i>	0,10 <i>0,18°</i>	0,07 <i>0,22°</i>	-	-
Propranolol hidroklorida	0,20 <i>0,060°</i>	0,20 <i>0,12°</i>	0,20 <i>0,23°</i>	-	-	-	-
Propantelin bromida	0,11 <i>0,032°</i>	0,11 <i>0,06°</i>	-	-	-	-	-
Proparakain hidroklorida	0,16 <i>0,044°</i>	0,15 <i>0,08°</i>	0,15 <i>0,16°</i>	0,14 <i>0,24°</i>	0,13 <i>0,38°</i>	0,12 <i>0,52°</i>	<b>7,46%</b> <b>7,46%</b>
Propilen glikol	0,44 <i>0,126°</i>	0,43 <i>0,25°</i>	0,43 <i>0,49°</i>	-	-	0,43 <i>0,52°</i>	<b>2,10%</b> <b>2,10%</b>
Propiomazin hidroklorida	0,18 <i>0,050°</i>	0,15 <i>0,08°</i>	0,12 <i>0,13°</i>	0,10 <i>0,16°</i>	0,08 <i>0,21°</i>	-	-
Propoksikain hidroklorida	0,22 <i>0,063°</i>	0,19 <i>0,11°</i>	0,17 <i>0,19°</i>	0,16 <i>0,28°</i>	0,15 <i>0,42°</i>	-	-
Raksa(II) klorida	0,14 <i>0,038°</i>	0,13 <i>0,07°</i>	0,12 <i>0,14°</i>	0,12 <i>0,20°</i>	0,10 <i>0,33°</i>	-	-
Raksa(II) sianida	0,16 <i>0,047°</i>	0,15 <i>0,08°</i>	0,15 <i>0,16°</i>	0,14 <i>0,23°</i>	0,13 <i>0,38°</i>	-	-

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Ranitidin hidroklorida	0,20 <i>0,057°</i>	0,18 <i>0,10°</i>	0,17 <i>0,19°</i>	0,16 <i>0,27°</i>	0,15 <i>0,42°</i>	- -	
Rasfedrin hidroklorida	0,32 <i>0,093°</i>	0,31 <i>0,17°</i>	0,30 <i>0,34°</i>	0,30 <i>0,51°</i>	- -	0,29 <i>0,52°</i>	<b>3,07%</b> <b>3,07%</b>
Resorsinol	0,28 <i>0,082°</i>	0,28 <i>0,16°</i>	0,28 <i>0,31°</i>	0,27 <i>0,47°</i>	- -	0,27 <i>0,52°</i>	<b>3,3%</b> <b>3,3%</b>
Riboflavin natrium fosfat	0,08 <i>0,022°</i>	0,08 <i>0,04°</i>	0,08 <i>0,09°</i>	0,08 <i>0,15°</i>	- -	- -	
Ritodrin hidroklorida	0,21 <i>0,062°</i>	0,20 <i>0,11°</i>	0,18 <i>0,21°</i>	0,18 <i>0,30°</i>	0,16 <i>0,46°</i>	- -	
Rolitetrasiklin	0,11 <i>0,032°</i>	0,11 <i>0,06°</i>	0,10 <i>0,11°</i>	0,09 <i>0,15°</i>	0,07 <i>0,20°</i>	- -	
Rose bengal	0,08 <i>0,022°</i>	0,07 <i>0,04°</i>	0,07 <i>0,08°</i>	0,07 <i>0,12°</i>	0,07 <i>0,19°</i>	0,06 <i>0,52°</i>	<b>14,9%</b> <b>14,9%</b>
Rose bengal B	0,08 <i>0,022°</i>	0,08 <i>0,04°</i>	0,08 <i>0,08°</i>	0,08 <i>0,15°</i>	0,08 <i>0,21°</i>	- -	
Saralasin asetat	0,10 <i>0,028°</i>	0,09 <i>0,05°</i>	0,08 <i>0,09°</i>	0,08 <i>0,13°</i>	0,08 <i>0,18°</i>	- -	
Sefaloridin	0,09 <i>0,023°</i>	0,07 <i>0,04°</i>	0,06 <i>0,07°</i>	0,06 <i>0,10°</i>	0,05 <i>0,14°</i>	- -	
Sefalotin natrium	0,18 <i>0,050°</i>	0,17 <i>0,09°</i>	0,16 <i>0,17°</i>	0,15 <i>0,25°</i>	0,14 <i>0,40°</i>	0,13 <i>0,52°</i>	<b>6,80%</b> <b>6,80%</b>
Sefamandol nafat	0,16 <i>0,045°</i>	0,14 <i>0,07°</i>	0,12 <i>0,13°</i>	0,11 <i>0,18°</i>	0,10 <i>0,29°</i>	- -	
Sefapiridin natrium	0,14 <i>0,038°</i>	0,13 <i>0,07°</i>	0,13 <i>0,14°</i>	0,13 <i>0,22°</i>	0,12 <i>0,36°</i>	0,11 <i>0,52°</i>	<b>7,80%</b> <b>7,80%</b>
Sefazolin natrium	0,14 <i>0,042°</i>	0,13 <i>0,07°</i>	0,12 <i>0,13°</i>	0,11 <i>0,19°</i>	0,11 <i>0,30°</i>	- -	
Sefoksitin natrium	0,18 <i>0,050°</i>	0,16 <i>0,09°</i>	0,15 <i>0,16°</i>	0,14 <i>0,23°</i>	0,13 <i>0,38°</i>	- -	



Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Sefotaksim natrium	0,16 0,046°	0,15 0,08°	0,14 0,15°	0,13 0,22°	0,12 0,35°	-	-
Seforanida	0,14 0,040°	0,12 0,06°	-	-	-	-	-
Seftazidim pentahidrat	0,09 0,022°	-	-	-	-	-	-
Seftizoksim natrium	0,16 0,045°	0,15 0,08°	0,14 0,15°	0,13 0,22°	0,12 0,35°	-	-
Seftriakzon natrium	0,14 0,040°	0,13 0,07°	0,13 0,14°	0,12 0,21°	0,12 0,33°	-	-
Sefuroksim natrium	0,13 0,037°	0,13 0,07°	0,13 0,15°	0,13 0,22°	0,13 0,36°	-	-
Sekobarbital natrium	0,25 0,071°	0,24 0,13°	0,23 0,27°	0,23 0,40°	-	0,23 0,52°	3,90% 3,90%
Strimonium bromida	0,10 0,030°	0,09 0,05°	0,09 0,10°	0,09 0,14°	0,08 0,23°	-	-
Siklizin hidroklorida	0,20 0,060°	-	-	-	-	-	-
Siklofosfamida	0,10 0,031°	0,10 0,06°	0,10 0,12°	-	-	-	-
Siklometikain sulfat	0,16 0,046°	0,13 0,07°	0,11 0,12°	0,10 0,16°	0,09 0,24°	-	-
Siklopentamin hidroklorida	0,36 0,104°	0,36 0,20°	0,35 0,39°	-	-	0,34 0,52°	2,68% 2,68%
Siklopentolat hidroklorida	0,22 0,061°	0,20 0,11°	0,19 0,21°	0,18 0,31°	0,17 0,49°	0,17 0,52°	5,3% 5,3%
Sinefrin tartrat	0,18 0,048°	0,17 0,09°	0,16 0,19°	0,16 0,28°	0,16 0,45°	0,16 0,52°	5,83% 5,83%
Sitarabin	0,11 0,034°	0,11 0,06°	0,11 0,13°	0,11 0,19°	0,11 0,31°	0,10 0,52°	8,92% 8,92%
Skopolamin hidrobromida	0,12 0,034°	0,12 0,06°	0,12 0,13°	0,12 0,20°	0,12 0,33°	0,11 0,52°	7,85% 7,85%
Skopolamin metil nitrat	0,18 0,049°	0,16 0,09°	0,15 0,17°	0,14 0,24°	0,13 0,38°	0,13 0,52°	6,95% 6,95%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Sorbitol hemihidrat	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,16 0,19°	0,16 0,28°	0,16 0,48°	0,16 0,52°	5,48%
Sparteïn sulfat	0,10 0,030°	0,10 0,05°	0,10 0,11°	0,10 0,16°	0,10 0,27°	0,10 0,52°	9,46%
Spektinomisin hidroklorida	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,16 0,18°	0,16 0,28°	0,16 0,46°	0,16 0,52°	5,66%
Stibamin glukosida	0,16 0,046°	0,14 0,07°	0,12 0,14°	0,11 0,19°	- -	- -	
Stibofen	0,20 0,059°	0,18 0,10°	0,19 0,19°	0,16 0,28°	0,15 0,43°	- -	
Streptomisin hidroklorida	0,18 0,050°	0,17 0,09°	0,17 0,19°	0,16 0,28°	0,16 0,45°	- -	
Streptomisin sulfat	0,08 0,020°	0,07 0,03°	0,07 0,07°	0,06 0,10°	0,06 0,17°	- -	
Streptozosin	0,14 0,041°	0,13 0,07°	0,12 0,14°	0,12 0,21°	0,12 0,35°	- -	
Strikhnin hidroklorida	0,20 0,060°	0,18 0,09°	0,14 0,16°	- -	- -	- -	
Strikhnin nitrat	0,12 0,035°	0,12 0,06°	- -	- -	- -	- -	
Sukrosa	0,08 0,023°	0,08 0,04°	0,09 0,09°	0,09 0,15°	0,09 0,26°	0,10 0,52°	9,25%
Suksinilkolin klorida	0,20 0,059°	0,20 0,11°	0,20 0,23°	0,20 0,35°	- -	0,20 0,52°	4,48%
Sulbaktam natrium	0,24 0,070°	0,24 0,14°	0,24 0,27°	0,24 0,41°	- -	0,24 0,52°	3,75%
Sulfadiazin natrium	0,26 0,073°	0,24 0,13°	0,23 0,26°	0,22 0,38°	- -	0,21 0,52°	4,24%
Sulfamerazin natrium	0,24 0,069°	0,23 0,13°	0,22 0,24°	0,21 0,36°	- -	0,20 0,52°	4,53%
Sulfametazin natrium	0,22 0,066°	0,21 0,12°	0,20 0,22°	0,19 0,32°	0,18 0,51°	- -	
Sulfapiridin natrium	0,26 0,073°	0,23 0,13°	0,22 0,24°	0,21 0,35°	- -	0,20 0,52°	4,55%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1.00%	2.00%	3.00%	5.00%		
Sulfatiazol natrium	0,23 0,067°	0,22 0,12°	0,21 0,23°	0,20 0,34°	- -	0,19 0,52°	<b>4,82%</b> <b>4,82%</b>
Sulfisoksazol dietanolamin	0,20 0,059°	0,18 0,10°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	- -	- -	
Sulfobromoftalein natrium	0,07 0,019°	0,06 0,03°	0,05 0,06°	0,05 0,08°	0,04 0,12°	- -	
Suramin natrium	0,10 0,030°	0,10 0,05°	0,10 0,11°	0,10 0,16°	0,10 0,27°	- -	
Tembaga(II) sulfat	0,20 0,054°	0,18 0,09°	0,16 0,17°	0,15 0,25°	0,14 0,39°	0,13 0,52°	<b>6,85%</b> <b>6,85%</b>
Tembaga(II) sulfat, anhidrat	0,30 0,084°	0,27 0,15°	0,25 0,28°	0,23 0,39°	- -	0,22 0,52°	<b>4,09%</b> <b>4,09%</b>
Teofilin	0,10 0,028°	- -	- -	- -	- -	- -	
Teofilin natrium glisinat	0,32 0,090°	0,31 0,18°	0,31 0,35°	0,31 0,35°	- -	0,31 0,52°	<b>2,94%</b> <b>2,94%</b>
Terbutalin sulfat	0,14 0,042°	0,14 0,08°	0,14 0,16°	0,14 0,23°	0,13 0,39°	0,13 0,52°	<b>6,75%</b> <b>6,75%</b>
Tetraetilamonium bromida	0,36 0,098°	0,33 0,18°	0,30 0,34°	0,28 0,49°	- -	0,28 0,52°	<b>3,17%</b> <b>3,17%</b>
Tetraetilamonium klorida	0,36 0,100°	0,34 0,19°	0,33 0,38°	- -	- -	0,33 0,52°	<b>2,67%</b> <b>2,67%</b>
Tetrahidrazolin hidroklorida	0,30 0,090°	0,28 0,16	0,25 0,28°	0,23 0,40°	- -	- -	
Tetrakain hidroklorida	0,20 0,062°	0,18 0,10°	0,17 0,18°	0,15 0,26°	0,12 0,35°	- -	
Tetrasiklin hidroklorida	0,16 0,046°	0,14 0,07°	0,12 0,12°	0,10 0,17°	- -	- -	
Tiamin hidroklorida	0,26 0,074°	0,25 0,13°	0,23 0,26°	0,22 0,37°	- -	0,21 0,52°	<b>4,24%</b> <b>4,24%</b>
Tietilperazin maleat	0,10 0,030°	0,09 0,05°	0,08 0,08°	0,07 0,11°	0,05 0,15°	- -	

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida						Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%			
Timolol maleat	0,14 0,038°	0,13 0,07°	0,12 0,14°	- -	- -	- -		
Tiopental natrium	0,28 0,079°	0,27 0,15°	0,27 0,30°	0,26 0,44°	- -	0,26 0,52°	<b>3,50%</b>	<b>3,50%</b>
Tiopropazat dihidroklorida	0,20 0,053°	0,16 0,09°	0,12 0,13°	0,10 0,17°	0,08 0,22°	- -		
Tioridazin hidroklorida	0,06 0,015°	0,05 0,02°	0,04 0,04°	0,03 0,05°	0,03 0,07°	- -		
Tiosianat natrium	0,17 0,205°	0,17 0,41°	- -	- -	- -	0,17 0,52°	<b>1,27%</b>	<b>1,27%</b>
Tiotepa	0,16 0,045°	0,16 0,09°	0,16 0,18°	0,16 0,27°	0,16 0,46°	0,16 0,52°	<b>5,67%</b>	<b>5,67%</b>
Tobramin	0,08 0,019°	0,07 0,03°	0,07 0,07°	0,07 0,11°	0,06 0,18°	- -		
Tolazolin hidroklorida	0,36 0,107°	0,34 0,19°	0,31 0,35°	0,30 0,51	- -	0,30 0,52	<b>3,05%</b>	<b>3,05%</b>
Tribromoetanol	0,06 0,015°	0,05 0,03°	0,05 0,05°	- -	- -	- -		
Tridihexetil klorida	0,16 0,047°	0,16 0,09°	0,16 0,19°	0,16 0,28°	0,16 0,46°	0,16 0,52°	<b>5,62%</b>	<b>5,62%</b>
Trietanolamin	0,20 0,058°	0,21 0,12°	0,22 0,25°	0,22 0,38°	- -	0,22 0,52°	<b>4,05%</b>	<b>4,05%</b>
Trifluoperazin dihidroklorida	0,18 0,052°	0,18 0,10°	- -	- -	- -	- -		
Tiflupromazin hidroklorida	0,10 0,031°	0,09 0,05°	0,05 0,06°	0,04 0,07°	0,03 0,09°	- -		
Trimeprazin tartrat	0,10 0,023°	0,06 0,03°	0,04 0,04°	0,03 0,05°	0,02 0,06°	- -		
Trimetadion	0,23 0,069°	0,23 0,13°	0,22 0,25°	0,22 0,37°	- -	0,21 0,52°	<b>4,22%</b>	<b>4,22%</b>
Trimetafan kamsilat	0,12 0,033°	0,10 0,06°	0,10 0,11°	0,09 0,15°	0,09 0,24°	- -		

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Trimetobenzamida hidroklorida	0,12 0,033°	0,10 0,06°	1,10 0,10°	0,09 0,15°	0,08 0,23°	-	-
Trinatrium edetat (monohidrat)	0,29 0,079°	0,29 0,15°	0,28 0,31°	0,27 0,47°	-	0,27 0,52°	3,31% 3,31%
Triparsamida	0,20 0,057°	0,20 0,11°	0,20 0,22°	0,20 0,33°	-	0,19 0,52°	4,62% 4,62%
Tripelenamin hidroklorida	0,38 0,110°	0,30 0,17°	0,24 0,26°	0,20 0,35°	-	-	-
Trometamin	0,26 0,075°	0,26 0,15°	0,26 0,30°	0,26 0,45°	-	0,26 0,52°	3,41% 3,41%
Tropakokain hidroklorida	0,30 0,085°	0,25 0,14°	0,22 0,25°	0,20 0,34°	-	0,18 0,52°	4,92% 4,92%
Tropikamida	0,10 0,030°	0,09 0,05°	-	-	-	-	-
Tuaminohepatana sulfat	0,28 0,078°	0,27 0,15°	0,27 0,30°	0,27 0,46°	-	0,26 0,52°	3,40% 3,40%
Tubokurarin klorida	0,14 0,042°	0,13 0,07°	0,11 0,12°	0,10 0,17°	0,09 0,26°	-	-
Urea	0,55 0,158°	0,52 0,30°	-	-	-	0,52 0,52°	1,73% 1,73%
Uretan	0,31 0,089°	0,31 0,17°	0,31 0,35°	-	-	0,31 0,52°	2,93% 2,93%
Uridin	0,12 0,035°	0,12 0,06°	0,12 0,13°	0,12 0,20°	0,12 0,33°	0,11 0,52°	8,18% 8,18%
Valetamat bromida	0,16 0,044°	0,15 0,08°	0,15 0,16°	0,14 0,23°	0,11 0,32°	-	-
Vankomisin hidroklorida	0,06 0,015°	0,05 0,02°	0,04 0,04°	0,04 0,06°	0,04 0,09°	-	-
Verapamil hidroklorida	0,16 0,044°	0,13 0,07°	0,10 0,12°	0,09 0,15°	0,07 0,20°	-	-
Vinbarbital natrium	0,26 0,074°	0,26 0,14°	0,26 0,29°	0,25 0,44°	-	0,25 0,52°	3,55% 3,55%

Zat kimia	Kadar larutan, kesetaraan natrium klorida					Pada kadar Isoosmotik	
	0,5%	1,00%	2,00%	3,00%	5,00%		
Vindesin sulfat	0,10 0,024°	0,08 0,04°	0,08 0,08°	0,07 0,12°	0,07 0,19°	-	-
Viomisin sulfat	0,08 0,025°	0,08 0,04°	0,07 0,08°	0,07 0,12°	0,07 0,19°	-	-
Warfarin natrium	0,18 0,049°	0,17 0,09°	0,16 0,18°	0,15 0,26°	0,15 0,43°	0,15 0,52°	<b>6,10%</b> <b>6,10%</b>
Xilometazolin hidroklorida	0,22 0,065°	0,21 0,12°	0,20 0,23°	0,20 0,31°	-	0,19 0,52°	<b>4,68%</b> <b>4,68%</b>
Zink p-fenosulfonat	0,18 0,053°	0,18 0,10°	0,18 0,19°	0,17 0,29°	0,17 0,48°	-	-
Zink klorida	0,66 0,190°	0,61 0,35°	-	-	-	-	-
Zink sulfanilat	0,22 0,066°	0,21 0,12°	0,20 0,22°	0,19 0,32°	0,18 0,51°	-	-
Zink sulfat	0,16 0,045°	0,15 0,08°	0,14 0,15°	0,13 0,22°	0,12 0,35°	0,12 0,52°	<b>7,65%</b> <b>7,65%</b>
Zink sulfat, kering	0,24 0,072°	0,23 0,13°	0,22 0,25°	0,21 0,36°	-	0,20 0,52°	<b>4,52%</b> <b>4,52%</b>



MENTERI KESEHATAN  
REPUBLIK INDONESIA,

MAFSIAH MBOI

# INDEXES





## INDEKS

### A

- Absorbable Surgical Suture, 215  
Absorbent Cotton Gauze, 630  
Acacia Gum Powder, 511  
Acebutolol Hydrochloride Capsule, 171  
Acebutolol Hydrochloride Tablet, 172  
Acebutolol Hydrochloride, 169  
Acetaminophen Oral Solution, 999  
Acetaminophen Oral Suspension, 1000  
Acetaminophen Tablet, 1001  
Acetaminophen, 998  
Acetazolamide for Injection, 175  
Acetazolamide Tablet, 174  
Acetazolamide, 173  
Acetic Acid, 143  
Acetone, 179  
Acetophenazine Maleate, 178  
Acetylcholine Chloride, 175  
Acetylcysteine Solution, 177  
Acetylcysteine, 176  
Acetylsalicylic Acid Tablet Buffered, 146  
Acetylsalicylic Acid Tablet Delayed-Release, 148  
Acetylsalicylic Acid Tablet Effervescent, 148  
Acetylsalicylic Acid Tablet, 145  
Acetylsalicylic Acid, 144  
Activated Charcoal, 137  
Acyclovir Cream, 181  
Acyclovir Ointment, 181  
Acyclovir Tablet, 182  
Acyclovir, 180  
Adenin Sulfat P, 1682  
Adeps Lanae, 760  
Aerosol, 45  
Aerosol, 45  
Agar P, 1682  
Agar, 63  
Agar-Agar, 63  
Air Amonia P, 1682  
Air Bebas Amonia dan Karbondioksida P, 1682  
Air Bebas Amonia P, 1682  
Air Bebas Karbon Dioksida P, 1682  
Air Bermorfin LP, 1682  
Air Brom LP, 1682  
Air Kemurnian Tinggi P, 1682  
Air Kloroform LP, 1682  
Air Murni, 63  
Air Steril Untuk Injeksi, 64  
Air Suling P, 1682  
Air untuk Injeksi P, 1682  
Akar Ipeka, 65  
Akar Manis, 69  
Akar Pule Pandak, 66  
Akrilamida P, 1682  
Akserofool, 71  
Albendazol, 71  
Albendazole, 71  
Albumin Manusia, 72  
Albumin Plasma Sapi P, Kering, 1682  
Albumin Sapi P, 1682  
Albumin Serum P, 1682  
Albumin, 72  
Albumin, Larutan P, 1682  
Albuterol Sulfat, 1122  
Albuterol, 1120  
Alcohol Absolute, 400  
Alcohol, 399  
Alendronat Natrium, 75  
Alendronate Sodium, 75  
Alendronic Acid Tablet, 138  
Alfa Tokoferol Asetat, 79  
Alfa Tokoferol, 77  
Alfanaftol P, 1682  
Alginic Acid, 139  
Alkohol P, 1683  
Allopurinole Tablet, 83  
Allopurinole, 83  
Aloe, 80  
Aloksiprin, 81  
Alopurinol, 83  
Aloxiptine Tablet, 82  
Aloxiptine, 81  
Alprazolam Tablet, 85  
Alprazolam, 84  
Alprenolol Hidroklorida, 86  
Alprenolol Hydrochloride Tablet, 87  
Alprenolol Hydrochloride, 86  
Alumina and Magnesia Carbonate Oral Suspension, 89  
Alumina and Magnesia Oral Suspension, 88  
Alumina and Magnesia Tablet, 89  
Alumina and Magnesium Carbonate Tablet, 90  
Alumina and Magnesium Trisilicate Oral Suspension, 92  
Alumina And Magnesium Trisilicate Tablet, 92  
Alumina Anhidrat P, 1683  
Alumina P, 1683  
Alumina, Magnesia and Calcium Carbonate Chewable Tablet, 94  
Alumina, Magnesia and Calcium Carbonate Oral Suspension, 93  
Alumina, Magnesia and Simethicone Chewable Tablet, 97  
Alumina, Magnesia and Simethicone Oral Suspension, 95  
Aluminium Hidroksida Gel P, 1683  
Aluminium Hydroxide Dried Gel, 99  
Aluminium Hydroxide Gel, 98  
Aluminium Kalium Sulfat, 100  
Aluminium Klorida P, 1683  
Aluminium Oksida Tercuci Asam P, 1683  
Aluminium P, 1683  
Aluminium Sulfat P, 1683  
Aluminium Potassium Sulfate, 100  
Amantadin Hidroklorida, 101  
Amantadine Hydrochloride, 101  
Amfetamin Sulfat, 102  
Amfoterisin B untuk Injeksi, 105  
Amfoterisin B, 104  
Amikacin Sulphate Injection, 108  
Amikacin Sulphate, 107  
Amikacin, 106  
Amikasin Sulfat, 107  
Amikasin, 106  
Amil Alkohol P, 1683  
Amilorida Hidroklorida, 108  
Amiloride Hydrochloride Tablet, 109  
Amiloride Hydrochloride, 108  
Amilum Larut P, 1683  
4-Aminoantipirin P, 1683  
Aminocaproic Acid Tablet, 141  
Aminocaproic Acid, 140  
Aminofenazon LP, 1683  
4-Aminofenazon P, 1683  
Aminofilin, 111  
2-Amino-5-Klorobenzofenon P, 1683  
Aminophyline Injection, 112  
Aminophyline Tablet, 112  
Aminophyline, 111  
Aminosalicylate Sodium Tablet, 904  
Aminosalicylic Acid, 142  
Amitriptilin Hidroklorida, 113  
Amitriptyline Hydrochloride Tablet, 115  
Amitriptyline Hydrochloride, 113  
Amlodipin Besilat, 116  
Amlodipine Besylate, 116  
Ammonia, 127  
Ammonium Chloride, 128  
Amobarbital, 117  
Amodiaquin Hidroklorida, 118  
Amodiaquin Hydrochloride Tablet, 119  
Amodiaquine Hydrochloride, 118  
Amoksisilin dan Kalium Klavulanat untuk Suspensi Oral, 126  
Amoksisilin Natrium, 123  
Amoksisilin Untuk Suspensi Oral, 123  
Amoksisilin, 120  
Amonia LP, 1683  
Amonia, 127  
Amonium Asetat LP, 1683  
Amonium Asetat P, 1683  
Amonium Besi(III) Sulfat LP, 1683  
Amonium Bikarbonat P, 1683  
Amonium Dihidrogen Fosfat P, 1683  
Amonium Etanol LP, 1684  
Amonium Format P, 1684  
Amonium Fosfat Dibasa P, 1684  
Amonium Fosfat Monobasa P, 1684  
Amonium Fosfat P, 1684  
Amonium Hidrogen Karbonat, 1684  
Amonium Hidroksida P, 1684  
Amonium Karbonat LP, 1684

- Amonium Karbonat P, 1684  
Amonium Klorida P, 1684  
Amonium Klorida, 128  
Amonium Metavanadat P, 1684  
Amonium Molibdat LP, 1684  
Amonium Molibdat P, 1684  
Amonium Nitrat, Pereaksi, 1684  
Amonium Nitrat P, 1684  
Amonium Oksalat LP, 1684  
Amonium Oksalat P, 1684  
Amonium Persulfat P, 1684  
Amonium Reineckat P, 1684  
Amonium Sitrat Dibasa P, 1684  
Amonium Sitrat LP, 1684  
Amonium Sulfamat P, 1684  
Amonium Sulfat P, 1684  
Amonium Sulfida LP, 1684  
Amonium Tiosianat 0,1 N LV, 1752  
Amonium Tiosianat LP, 1685  
Amonium Tiosianat P, 1685  
Amonium Vanadat P, 1685  
Amoxicillin and Potassium  
Clavulanate for Oral Suspension,  
126  
Amoxicillin and Potassium  
Clavulanate Tablet, 125  
Amoxicillin Capsule, 121  
Amoxicillin for Oral Suspension, 123  
Amoxicillin Sodium, 123  
Amoxicillin Tablet, 121  
Amoxicillin, 120  
Amphetamine Sulphate Injection, 103  
Amphetamine Sulphate Tablet, 103  
Amphetamine Sulphate, 102  
Amphotericin B for Injection, 105  
Amphotericin B Ointment, 105  
Amphotericin B, 104  
Ampicilin Sodium, 132  
Ampicillin and Sulbactam for  
Injection, 133  
Ampicillin Capsule, 129  
Ampicillin for Injection, 131  
Ampicillin for Oral Suspension, 131  
Ampicillin Tablet, 130  
Ampicillin, 128  
Ampisilin dan Sulbaktam untuk  
Injeksi, 133  
Ampisilin Natrium, 132  
Ampisilin untuk Injeksi, 131  
Ampisilin untuk Suspensi Oral, 131  
Ampisilin, 128  
Amylum Manihot, 1003  
Amylum Maydis, 1003  
Amylum Oryzae, 1002  
Amylum Solani, 1003  
Amylum Triticici, 1002  
Analisis Termal, 1491  
Anhidrat Asetat P, 1685  
Anhidrida Asetat-Dioksan LP, 1685  
Anhidrida Ftalat P, 1685  
Anhidrida Perosmat P, 1685  
Anhydrous Dibasic Calcium  
Phosphate, 597  
Anhydrous Lactose, 752  
Anilin P, 1685  
Anisaldehida P, 1685  
Anise Oil, 878  
Anisi Fructus, 258  
Anisol P, 1685  
Antalgin, 844  
Antazolin Hidroklorida, 135  
Antazoline Hydrochloride, 135  
Antihemophily Fraction Factor VIII,  
472  
Antimon Triklorida P, 1685  
Antimon(III) Klorida LP, 1685  
Antimon(III) Klorida P, 1685  
Antipirin, 135  
Antipyrine, 135  
Antitoksin Botulinum, 562  
Antitoksin Difteri, 563  
Antitoksin Tetanus, 564  
Antron LP, 1685  
Antron P, 1685  
Apomorfin Hidroklorida, 136  
Apomorphine Hydrochloride, 136  
Aprotinin P, 1685  
Arakhidik Alkohol P, 1685  
Arang Aktif P, 1685  
Arang Jerap, 137  
Argon P, 1685  
Arsen Trioksida P, 1685  
Asam (Etilendinitrilo) Tetraasetat P,  
1688  
Asam  $\alpha$ -Metoksifenilasetat LP, 1690  
Asam  $\alpha$ -Metoksifenilasetat P, 1690  
Asam 1,2,4-Aminonafolsulfonat P,  
1686  
Asam 2-Etilheksanoat P, 1688  
Asam 3,5-Dinitrobenzoat P, 1687  
Asam 3-Aminosalisilat P, 1687  
Asam 4-Amino-3-Hidroksi-1-  
Naftalensulfonat P, 1686  
Asam Adipat P, 1686  
Asam Alginat, 139  
Asam Aminoasetat P, 1686  
Asam Aminohipurat LP, 1686  
Asam Aminokaproat, 140  
Asam Aminonafolsulfonat LP, 1687  
Asam Aminosalisilat, 142  
Asam Asetat Encer P, 1687  
Asam Asetat Glasial P, 1687  
Asam Asetat P, 1687  
Asam Asetat, 143  
Asam Asetilsalisilat, 144  
Asam Askorbat P, 1687  
Asam Askorbat, 149  
Asam Benzoat P, 1687  
Asam Benzoat, 151  
Asam Bis (2-Etilheksil)Fosfat P, 1687  
Asam Borat LP, 1687  
Asam Borat P, 1687  
Asam Bromida P, 1687  
Asam Diazobenzensulfonat LP, 1687  
Asam Di-10-Kamfersulfonat P, 1689  
Asam Edetat P, 1687  
Asam Fenoldisolfonat LP, 1688  
Asam Flourida P, 1688  
Asam Folat P, 1688  
Asam Folat, 153  
Asam Format 96% P, 1688  
Asam Format Anhidrat P, 1689  
Asam Format P, 1688  
Asam Fosfat P, 1689  
Asam Fosfat, 155  
Asam Fosfomolibdat LP, 1689  
Asam Fosfomolibdat P, 1689  
Asam Ftalat P, 1689  
Asam Fusidat, 155  
Asam Heptansulfonat P, 1689  
Asam Hipofosfit P, 1689  
Asam Iodat P, 1689  
Asam Iodida P, 1689  
Asam Kalkonkarboksilat Campur P,  
1689  
Asam Kalkonkarboksilat P, 1689  
Asam Klorida 1 N LV, 1752  
Asam Klorida Bertimah P, 1689  
Asam Klorida Encer P, 1689  
Asam Klorida Metanol 0,5 N LV, 1752  
Asam Klorida P, 1689  
Asam Klorida, 156  
Asam Klorida-Etanol LP, 1689  
Asam Klorida-Metanol LP, 1689  
Asam Kloroasetat P, 1689  
Asam Kloroplatinat P, 1689  
Asam Kolat P, 1689  
Asam Kromotropat LP, 1690  
Asam Kromotropat P, 1690  
Asam Laktat P, 1690  
Asam Mefenamat, 156  
Asam Metafosfat P, 1690  
Asam Metafosfat-Asetat LP, 1690  
Asam Metanosulfonat P, 1690  
Asam Molibdat P, 1690  
Asam Nalidiksate, 159  
Asam N-Asetilneuraminat P, 1687  
Asam Nitrat 1 N LV, 1752  
Asam Nitrat Berasap P, 1690  
Asam Nitrat Encer P, 1690  
Asam Nitrat P, 1690  
Asam Nitrat, 160  
Asam Nitritotriasetat P, 1690  
Asam Oksalat LP, 1690  
Asam Oksalat P, 1690  
Asam Ortofosfat P, 1690  
Asam Osmat P, 1690  
Asam P-Aminobenzoat P, 1686  
Asam P-Aminohipurat P, 1686  
Asam Pentanoat P, 1690  
Asam Perklorat 0,1 N LV, 1753  
Asam Perklorat Dioksan 0,1 N LV,  
1753  
Asam Perklorat P, 1690  
Asam Perklorat P, 60%, 1690  
Asam P-Hidroksibenzoat P, 1689  
Asam Pikrat LP, 1690  
Asam Pikrat P, 1690  
Asam Pikrolonat P, 1690  
Asam P-Toluat P, 1692  
Asam P-Toluensulfonat LP, 1692  
Asam P-Toluensulfonat P, 1692  
Asam Retinoat, 161  
Asam Salisilat P, 1690  
Asam Salisilat, 163  
Asam Selenit P, 1690

- Asam Silikat P, 1691  
Asam Sitrat Anhidrat P, 1691  
Asam Sitrat P, 1691  
Asam Sitrat, 164  
Asam Sorbat, 165  
Asam Sulfamat P, 1691  
Asam Sulfanilat P, 1691  
Asam Sulfat I N LV, 1753  
Asam Sulfat Bebas Nitrogen P, 1691  
Asam Sulfat Berasap P, 1691  
Asam Sulfat Encer P, 1691  
Asam Sulfat Etanol 0,5 N LV, 1753  
Asam Sulfat Etanol LP, 1691  
Asam Sulfat LP, 1691  
Asam Sulfat P, 1691  
Asam Sulfat, 165  
Asam Sulfat-Formaldehida LP, 1691  
Asam Sulfida P, 1691  
Asam Sulfit P, 1691  
Asam Sulfosalisilat P, 1691  
Asam Tanat LP, 1692  
Asam Tanat P, 1691  
Asam Tartrat P, 1692  
Asam Tartrat, 166  
Asam Tioglikolat P, 1692  
Asam Trikloroasetat P, 1692  
Asam Undesilenat, 166  
Asam Valerat P, 1692  
Asam Valproat, 167  
Asam-p-Aminohipurat P, 1686  
Ascorbic Acid Injection, 150  
Ascorbic Acid Tablet, 150  
Ascorbic Acid, 149  
Asebutolol Hidroklorida, 169  
Asetaldehida P, 1692  
Asetal Aldehida P, 1692  
Asetazolamida untuk Injeksi, 175  
Asetazolamida, 173  
Asetil Klorida P, 1692  
Asetilaseton LP, 1692  
Asetilaseton P, 1692  
Asetilkolin Klorida, 175  
Asetilsistein, 176  
Asetofenazin Maleat, 178  
Aseton P, 1692  
Aseton, 179  
Asetonitril Fosfat LP, 1692  
Asetonitril LC P, 1692  
Asetonitril P, 1692  
Asetosal, 144  
Asiklovir, 180  
Astemizol, 183  
Astemizole Tablet, 184  
Astemizole, 183  
Atenolol Tablet, 186  
Atenolol, 185  
Atracurium Besylate Injection, 189  
Atracurium Besylate, 187  
Atrakurium Besilat, 187  
Atropin Sulfat P, 1693  
Atropin Sulfat, 190  
Atropine Sulfate Injection, 191  
Atropine Sulfate Ophthalmic Solution, 193  
Atropine Sulfate Tablet, 192  
Atropine Sulfate, 190
- Axeroftol, 71  
Azatadin Maleat, 193  
Azatadine Maleate, 193  
Azathioprine Tablet, 195  
Azathioprine, 194  
Azatioprin, 194  
Azithromycin Capsule, 199  
Azithromycin for Injection, 202  
Azithromycin for Oral Suspension, 205  
Azithromycin Tablet, 200  
Azithromycin, 196  
Azitromisin untuk Injeksi, 202  
Azitromisin untuk Suspensi Oral, 205  
Azitromisin, 196  
Azo Violet P, 1693, 1745
- ## B
- Bacillus Calmette-Guerin Vaccine, 1297  
Bacitracin Zinc, 209  
Bacitracin, 207  
Bahan Partikulat Dalam Injeksi, 1494  
Baku Pembanding Farmakope Indonesia, 1339  
Barbital Natrium P, 1693  
Barbiton Natrium P, 1693  
Barium Hidroksida LP, 1693  
Barium Hidroksida P, 1693  
Barium Karbonat P, 1693  
Barium Klorida 0,1 M LV, 1753  
Barium Klorida LP, 1693  
Barium Klorida P, 1693  
Barium Nitrat LP, 1693  
Barium Nitrat P, 1693  
Barium Sulfat P, 1693  
Barium Sulfat untuk Suspensi, 207  
Barium Sulfat, 206  
Barium Sulfate for Suspension, 207  
Barium Sulfate, 206  
Basitrasin Zink, 209  
Basitrasin, 207  
Beban Regang Minimum, 1504  
Beclomethasone Dipropionate, 211  
Beklometason Dipropionat, 211  
Belerang Dioksida P, 1693  
Belerang Endap, 215  
Belerang P, 1693  
Belladonna Extract Tablet, 213  
Belladonna Extract, 212  
Belladonna Herbs, 213  
Benang Bedah Terabsorpsi, 215  
Benang Bedah Tidak Terabsorpsi, 216  
Bentonit, 218  
Bentonite, 218  
Benzaldehida P, 1693  
Benzalkonium Chloride, 219  
Benzalkonium Klorida P, 1694  
Benzalkonium Klorida, 219  
Benzatin Benzilpenisilin, 220  
Benzatin Penisilin G, 220  
Benzen 1,3-Diol P, 1694  
Benzen P, 1694  
Benzensulfonil Klorida P, 1694
- Benzethonium Chloride, 221  
Benzetonium Klorida, 221  
Benzil Alkohol, 222  
Benzil Benzoat P, 1694  
Benzil Benzoat, 223  
Benzilpenisilin Benzathine, 220  
Benziltrimetilamonium Klorida P, 1694  
Benzoate Acid, 151  
Benzocaine, 226  
Benzofenon P, 1694  
Benzoic and Salicylic Acids Ointment, 152  
Benzoil Klorida P, 1694  
Benzoil Peroksida Hidrat, 225  
Benzoil Peroksida P, 1694  
Benzokain, 226  
Benzoyl Peroxide Gel, 223  
Benzyl Alcohol, 222  
Benzyl Benzoate, 223  
Besi Tereduksi P, 1694  
Besi(II) Amonium Sulfat 0,1 N LV, 1753  
Besi(II) Amonium Sulfat P, 1695  
Besi(II) Fumarat, 227  
Besi(II) Glukonat, 230  
Besi(II) Sulfat LP, 1695  
Besi(II) Sulfat P, 1695  
Besi(II) Sulfat, 231  
Besi(III) Amonium Sitrat P, 1694  
Besi(III) Amonium Sulfat 0,1 N LV, 1754  
Besi(III) Amonium Sulfat LP, 1695  
Besi(III) Amonium Sulfat P, 1695  
Besi(III) Klorida Heksahidrat P, 1695  
Besi(III) Klorida LK, 1751  
Besi(III) Klorida LP, 1695  
Besi(III) Klorida P, 1695  
Besi(III) Nitrat LP, 1695  
Besi(III) Nitrat P, 1695  
Betahistin Hidroklorida, 232  
Betahistine Hydrochloride, 232  
Betametason Dipropionat, 235  
Betametason Natrium Fosfat, 238  
Betametason P, 1695  
Betametason Valerat, 240  
Betametason, 233  
Betamethasone Dipropionate Cream, 236  
Betamethasone Dipropionate Ointment, 237  
Betamethasone Dipropionate, 235  
Betamethasone Sodium Phosphate, 238  
Betamethasone Sodium Phosphate Injection, 239  
Betamethasone Tablet, 234  
Betamethasone Valerate Ointment, 242  
Betamethasone Valerate, 240  
Betamethasone, 233  
Betanaftol LP, 1695  
Betanaftol P, 1695  
Bethamethasone Valerate Cream, 241  
Bifenil P, 1695  
Biperiden Lactate Injection, 243  
Biperiden, 243  
2,2'-Bipiridina P, 1695

Biru Asam 90 P, 1695  
Biru Bromofenol LP, 1695  
Biru Bromofenol P, 1695, 1745  
Biru Bromokresol LP, 1695  
Biru Bromokresol P, 1695, 1745  
Biru Bromotimol LP, 1695  
Biru Bromotimol P, 1695, 1745  
Biru Dekstran 2000 P, 1695  
Biru Hidroksi Naftol LP, 1696  
Biru Hidroksi Naftol P, 1696, 1745  
Biru Metilen, 862  
Biru Metilena LP, 1696  
Biru Metilena P, 1696  
Biru Metiltimol P, 1696, 1745  
Biru Metiltimol P, Campuran, 1696, 1745  
Biru Nile Hidroklorida P, 1745  
Biru Oraset B LP, 1696  
Biru Oraset B P, 1696, 1746  
Biru Tetrazolium Alkalis LP, 1696  
Biru Tetrazolium LP, 1696  
Biru Tetrazolium P, 1696  
Biru Timol LP (A), 1696  
Biru Timol LP, 1696  
Biru Timol P, 1696, 1746  
Biru Toluidina LP, 1696  
Biru Toluidina P, 1696  
Bis(Trimetilsilil)Asetamida P, 1697  
Bis(Trimetilsilil)Trifluoroasetamida P, 1697  
Bisacodyl Delayed-Release Tablet, 245  
Bisacodyl Suppositories, 245  
Bisacodyl, 244  
Bisakodil, 244  
Bismut Oksinitrat P, 1696  
Bismut Subgalat, 246  
Bismut Subkarbonat, 247  
Bismut Subnitrat P, 1696  
Bismut Subnitrat, 248  
Bismuth Subcarbonate, 247  
Bismuth Subgallate, 246  
Bismuth Subnitrate, 248  
Bisoprolol Fumarat, 249  
Bisoprolol Fumarate Tablet, 250  
Bisoprolol Fumarate, 249  
Bleomisin Sulfat, 251  
Bleomisin untuk Injeksi, 252  
Bleomycin for Injection, 252  
Bleomycin Sulfate, 251  
Bobot Per Satuan Luas, 1504  
Boraks, 927  
Botulinum Antitoxin, 562  
Brom 0,1 N LV, 1754  
Brom LP, 1697  
Brom P, 1697  
Bronfeniramin Maleat, 253  
Bromheksin Hidroklorida, 254  
Bromhexine Hydrochloride, 254  
Bromocriptine Mesilate, 255  
Bromocriptine Mesylate Tablet, 256  
Bromokriptin Mesilat, 255  
Brompheniramine Maleat, 253  
Brusin Sulfat P, 1697  
Buah Adas Manis, 258  
Budesonid, 259  
Budesonide, 259

Bupivacaine Hydrochloride Injection, 262  
Bupivacaine Hydrochloride, 261  
Bupivakain Hidroklorida, 261  
Buprenorfin Hidroklorida, 263  
Buprenorphine Hydrochloride, 263  
Buspiron Hidroklorida, 264  
Buspiron Hydrochloride Tablet, 265  
Buspiron Hydrochloride, 264  
Busulfan Tablet, 266  
Busulfan, 266  
Butan-2-on P, 1697  
1-Butanol P, 1697  
2-Butanol P, 1697  
Buthyl Hydroxyanisole, 266  
Buthyl Hydroxytoluene, 267  
Buthylparaben, 268  
Butil Alkohol Normal P, 1697  
Butil Alkohol P, 1697  
Butil Alkohol Sekunder P, 1697  
Butil Alkohol Tersier P, 1697  
Butil Asetat Normal P, 1698  
Butil Hidroksianisol P, 1698  
Butil Hidroksianisol, 266  
Butil Hidroksitoluen P, 1698  
Butil Hidroksitoluen, 267  
Butil-Eter P, 1698  
Butilparaben, 268

## C

Caffeine Citrate Injection, 729  
Caffeine, 728  
Cairan Lambung Buatan LP, 1698  
Cairan Usus Buatan LP, 1698  
Calamine, 593  
Calcitriol, 596  
Calcium Carbonate, 602  
Calcium Chloride Injection, 604  
Calcium Chloride, 604  
Calcium Gluconate Injection, 601  
Calcium Gluconate, 599  
Calcium Hydroxide Topical Solution, 602  
Calcium Hydroxide, 601  
Calcium Lactate Tablet, 605  
Calcium Lactate, 605  
Calcium Panthothenate, 606  
Calcium Sulfate, 606  
Camphor, 607  
Capsule, 49  
Captopril Tablet, 613  
Captopril, 612  
Carbamazepine Oral Suspension, 616  
Carbamazepine Tablet, 617  
Carbamazepine, 614  
Carbidopa, 618  
Carbinoxamine Maleate, 619  
Carbon Dioxide, 620  
Carboplatin for Injection, 623  
Carboplatin, 621  
Carboxymethylcellulose Sodium, 620  
Carisoprodol Tablet, 625  
Carisoprodol, 624  
Carvedilol Tablet, 628  
Carvedilol, 626  
Castor Oil, 879  
Cefaclor Capsule, 1129  
Cefaclor for Oral Suspension, 1130  
Cefaclor, 1127  
Cefadroxil Capsule for Suspension Oral, 1127  
Cefadroxil Capsule, 1125  
Cefadroxil Tablet, 1126  
Cefadroxil, 1124  
Cefamandol Nafate for Injection, 1137  
Cefamandol Nafate, 1136  
Cefazolin Injection, 1138  
Cefazolin Sodium for Injection, 1140  
Cefazolin Sodium, 1139  
Cefazolin, 1138  
Cefepime for Injection, 1143  
Cefepime Hydrochloride, 1141  
Cefixime for Oral Suspension, 1147  
Cefixime Tablet, 1146  
Cefixime, 1145  
Cefoperazone Sodium, 1147  
Cefotaxime for Injection, 1150  
Cefotaxime Injection, 1150  
Cefotaxime Sodium, 1148  
Cefotiam for Injection, 1153  
Cefotiam Hydrochloride, 1152  
Ceftazidime for Injection, 1159  
Ceftazidime Injection, 1159  
Ceftazidime, 1158  
Ceftizoxim for Injection, 1163  
Ceftizoxime Injection, 1163  
Ceftizoxime Sodium, 1162  
Ceftriaxon for Injection, 1166  
Ceftriaxone Injection, 1165  
Ceftriaxone Sodium, 1164  
Cefuroxime Axetil Tablet, 1168  
Cefuroxime Axetil, 1167  
Cefuroxime for Injection, 1170  
Cefuroxime Sodium, 1169  
Cemaran Senyawa Organik Mudah Menguap, 1445  
Cemaran Umum, 1449  
Cephalexin Capsule, 1132  
Cephalexin for Oral Suspension, 1134  
Cephalexin Hydrochloride, 1135  
Cephalexin Tablet, 1133  
Cephalexin, 1131  
Cephadrine Capsule, 1155  
Cephadrine for Oral Suspension, 1157  
Cephadrine Tablet, 1156  
Cephadrine, 1154  
Cephradinum For Injection, 1156  
Cera Alba, 809  
Cera Flava, 809  
Cetilpyridinium Chloride, 1173  
Cetrimide, 1174  
Cetyl Alcohol, 1172  
Chloral Hydrate, 682  
Chlorambucil Tablet, 683  
Chlorambucil, 683  
Chloramfenicol Palmitate Oral Suspension, 691  
Chloramfenicol Palmitate, 690

- Chloramfenicol Sodium Succinate for Injection, 689  
Chloramphenicol Capsule, 685  
Chloramphenicol Cream, 686  
Chloramphenicol Ophthalmic Ointment, 687  
Chloramphenicol Ophthalmic Solution, 687  
Chloramphenicol Oral Solution, 686  
Chloramphenicol Otic Solution, 688  
Chloramphenicol Sodium Succinate, 688  
Chloramphenicol, 684  
Chlorbutanol Anhydrous, 706  
Chlorbutanol, 706  
Chlordiazepoxide Hydrochloride and Clidinium Bromide Capsule, 697  
Chlordiazepoxide Hydrochloride Capsule, 695  
Chlordiazepoxide Hydrochloride Tablet, 696  
Chlordiazepoxide Hydrochloride, 694  
Chlordiazepoxide Tablet, 693  
Chlordiazepoxide, 692  
Chlorhexidin Gauze Dressing, 633  
Chlorhexidine Acetate, 701  
Chlorhexidine Gluconate Solution, 702  
Chlorhexidine Hydrochloride, 704  
Chlorocresol, 707  
Chloroform, 707  
Chloroquine Hydrochloride Injection, 710  
Chloroquine Phosphate Tablet, 709  
Chloroquine Phosphate, 708  
Chloroquine Sulphate, 710  
Chloroquine, 708  
Chlorpheniramine Maleate Injection, 700  
Chlorpheniramine Maleate Tablet, 700  
Chlorpheniramine Maleate, 699  
Chlorpromazine Hydrochloride Syrup, 713  
Chlorpromazine Hydrochloride Injection, 712  
Chlorpromazine Hydrochloride Tablet, 715  
Chlorpromazine Hydrochloride, 712  
Chlorpropamide Tablet, 716  
Chlorpropamide, 715  
Chlorthalidone Tablet, 718  
Chlorthalidone, 717  
Chlorzoxazone Tablet, 720  
Chlorzoxazone, 719  
Cholecalciferol, 731  
Cholera Vaccine, 1302  
Cholestyramine Resin for Oral Suspension, 732  
Chorionic Gonadotropin for Injection, 513  
Chorionic Gonadotropin, 512  
Chymotrypsin, 643  
Cilostazol Tablet, 1190  
Cilostazol, 1189  
Cimetidine Tablet, 1192  
Cimetidine, 1191  
Cinchona Bark, 750  
Ciprofloxacin Hydrochloride, 1196  
Ciprofloxacin Tablet, 1198  
Cisplatin for Injection, 1203  
Cisplatin, 1200  
Citric Acid, 164  
Clarithromycin Extended-Release Tablet, 648  
Clarithromycin for Oral Suspension, 646  
Clarithromycin Tablet, 647  
Clarithromycin, 644  
Clavulanate Potassium, 651  
Clemastine Fumarate Tablet, 656  
Clemastine Fumarate, 654  
Clidinium Bromide, 657  
Clindamycin for Injection, 660  
Clindamycin Hydrochloride Capsule, 661  
Clindamycin Hydrochloride, 660  
Clindamycin Injection, 659  
Clindamycin Palmitate Hydrochloride, 662  
Clindamycin Phosphate, 658  
Clioquinol, 663  
Clobetasol Propionate Cream, 666  
Clobetasol Propionate, 664  
Clofazimin, 666  
Clofazimine Capsule, 667  
Clomiphene Citrate Tablet, 671  
Clomiphene Citrate, 669  
Clomipramine Hydrochloride Capsule, 673  
Clomipramine Hydrochloride, 671  
Clonazepam Tablet, 674  
Clonazepam, 674  
Clonidine Hydrochloride Injection, 677  
Clonidine Hydrochloride Tablet, 678  
Clonidine Hydrochloride, 676  
Clopidogrel Bisulfate, 679  
Clopidogrel Tablet, 680  
Clotrimazol Cream, 722  
Clotrimazol Topical Solution, 723  
Clotrimazol Vaginal Tablet, 724  
Clotrimazole, 721  
Cloxacillin Sodium, 668  
Cocaine Hydrochloride, 730  
Cod Liver Oil, 879  
Codeine Hydrochloride, 727  
Codeine Phosphate Tablet, 726  
Codeine Phosphate, 725  
Codeine, 724  
Colchicine Tablet, 735  
Colchicine, 734  
Colistin Sulphate, 733  
Colloidal Activated Attapulgit, 735  
Concentrated Red Blood Cells, 1171  
Conjugated Estrogen, 393  
Conjugated Estrogen Tablet, 394  
Corticotropin for Injection, 738  
Corticotropin Injection, 736  
Cortison : Acetate Injectable Suspension, 740  
Cortisone Acetate Injectable Suspension, 740  
Cortisone Acetate, 738  
Cotrimoxazole Tablet, 741  
Cotton Crepe Bandage, 1004  
Cotton, 611  
Cream, 51  
Creolin, 742  
Cresol, 742  
Cyanocobalamin <sup>57</sup>Co Oral Solution, 1176  
Cyanocobalamin Injection, 1175  
Cyanocobalamin, 1174  
Cyanocobalamin <sup>57</sup>Co Capsule, 1176  
Cyclophosphamide Pro Injection, 1182  
Cyclophosphamide Tablet, 1180  
Cyclophosphamide, 1178  
Cycloserine Capsule, 1183  
Cycloserine, 1182  
Cyclosporine Concentrate for Injection, 1186  
Cyclosporine Oral Solution, 1185  
Cyclosporine, 1184  
Cyproheptadine Hydrochloride Tablet, 1199  
Cyproheptadine Hydrochloride, 1199  
Cysteine Hydrochloride, 1204  
Cytarabine For Injection, 1207  
Cytarabine, 1205

## D

- Dactinomycin for Injection, 269  
Dactinomycin, 268  
Daktinomisin untuk Injeksi, 269  
Daktinomisin, 268  
Dapar Amonia pH 10,0, 1698  
Dapar Amonia pH 10,9, 1698  
Dapar Amonia-Amonium Klorida pH 10,7 LP, 1698  
Dapar Asam Asetat-Amonium Asetat LP, 1698  
Dapar Asetat pH 2,45 LP, 1698  
Dapar Asetat pH 3,5 LP, 1698  
Dapar Asetat pH 3,7, 1698  
Dapar Asetat pH 4,4, 1698  
Dapar Asetat pH 4,6, 1698  
Dapar Barbitat pH 8,6, 1698  
Dapar Borat pH 8,0, 1698  
Dapar Borat pH 9,0, 1698  
Dapar Dietanolamin pH 10,0, 1698  
Dapar Fosfat Campuran 0,1 M pH 8,0, 1699  
Dapar Fosfat Campuran pH 4,0, 1698  
Dapar Fosfat Campuran pH 7,0 Mengandung Azida, 1698  
Dapar Fosfat pH 6,4, 1698  
Dapar Fosfat pH 7,6, 1698  
Dapar Fosfat-Sitrat pH 7,2, 1699  
Dapar Fosfat-Sitrat pH 7,6, 1699  
Dapar Glisin, 1699  
Dapar Imidazol pH 6,5, 1699  
Dapar Imidazol pH 7,3, 1699  
Dapar Tris-Glisin pH 8,3, 1699  
Dapar Tris-Klorida pH 7,5, 1699  
Dapar Untuk Contoh, 1699  
Dapsone, 270  
Dapsone Tablet, 271

- Dapsone, 270  
Darah Sedikit Plasma, 273  
Darah, 272  
Daun Digitalis, 317  
Daun Hiosiamus, 543  
Daun Menta, 831  
Daunorubicin Hydrochloride for Injection, 274  
Daunorubicin Hydrochloride, 273  
Daunorubisin Hidroklorida untuk Injeksi, 274  
Daunorubisin Hidroklorida, 273  
Daya Kait Jarum Bedah, 1505  
Daya Regang Benang Bedah, 1506  
Daya Rekat, 1506  
Deferoksamin Mesilat untuk Injeksi, 275  
Deferoksamin Mesilat, 274  
Deferoxamine Mesylate for Injection, 275  
Deferoxamine Mesylate, 274  
Deksametason Asetat, 280  
Deksametason Natrium Fosfat, 281  
Deksametason, 276  
Deksbromfeniramin Maleat, 284  
Deksklorfeniramin Maleat, 285  
Dekspantenol, 288  
Dekstran 40, 288  
Dekstran 70, 292  
Dekstran Biru 2000 P, 1699  
Dekstrometorfan Hidrobromida, 294  
Dekstrometorfan, 294  
Dekstrosa Anhidrat P, 1699  
Dekstrosa P, 1699  
Dekstrosa, 296  
Dekualinium Klorida, 297  
Demeclocycline Hydrochloride Capsule, 299  
Demeclocycline Hydrochloride, 298  
Demeklosiklin Hidroklorida, 298  
Deniges, Perekasi, 1699  
Dequalinium Chloride, 297  
Desain dan Analisis Penetapan Hayati, 1366  
Deslanosida, 300  
Deslanoside Injection, 301  
Deslanoside, 300  
Desoksimesetason, 302  
Desoximesetason, 302  
Dexamethasone Acetate, 280  
Dexamethasone Elixir, 277  
Dexamethasone Injection, 278  
Dexamethasone Sodium Phosphate Injection, 283  
Dexamethasone Sodium Phosphate, 281  
Dexamethasone Tablet, 279  
Dexamethasone, 276  
Dexbrompheniramine Maleate, 284  
Dexchlorpheniramine Maleate Oral Solution, 286  
Dexchlorpheniramine Maleate Tablet, 287  
Dexchlorpheniramine Maleate, 285  
Dexpanthenol, 288  
Dextran 40 Injection, 291  
Dextran 40, 288  
Dextran 70 Injection, 293  
Dextran 70, 292  
Dextromethorphan Hydrobromide Oral Solution, 295  
Dextromethorphan Hydrobromide, 294  
Dextromethorphan, 294  
Dextrose Injection, 297  
Dextrose, 296  
D-Glukosa P, 1711  
Diameter Benang Bedah, 1508  
3,3'-Diaminobenzidina Hidroklorida P, 1699  
2,3-Diaminonafalena P, 1699  
Diamonium Hidrogen Fosfat P, 1699  
Diazepam Injection, 304  
Diazepam Tablet, 305  
Diazepam, 303  
Dibecasin Sulphate, 305  
Dibekasin Sulfat, 305  
2,6-Dibromokuinon-Klorimida P, 1699  
Dibucaine Hydrochloride, 306  
Dibukain Hidroklorida, 306  
Dibutil Ftalat P, 1700  
Diclofenac Potassium Tablet, 328  
Diclofenac Potassium, 327  
Diclofenac Sodium Delayed-Release Tablet, 331  
Diclofenac Sodium, 330  
Dicloxacilin Sodium Sterile, 334  
Dicloxacilin Sodium Capsule, 334  
Dicloxacilin Sodium for Oral Suspension, 335  
Dicloxacilin Sodium, 332  
Dicumarol, 336  
Dicyclomine Hydrochloride, 345  
Didanosin untuk Larutan Oral, 309  
Didanosin, 307  
Didanosine for Oral Solution, 309  
Didanosine, 307  
Didrogesteron, 310  
Dietanolamina P, 1700  
Diethylcarbamazine Citrate Tablet, 313  
Diethylcarbamazine Citrate, 312  
Diethylstilbestrol, 314  
Dietyl Eter Anhidrat P, 1700  
Dietyl Eter P, 1700  
Dietilamina P, 1700  
Dietilkarbamazin Sifat, 312  
Dietilstilbestrol, 314  
Difenhidramin Hidroklorida, 315  
Difenhidramin Teoklat, 338  
Difenil Eter P, 1700  
Difenilamin LP, 1700  
Difenilamina P, 1700  
Difenilkarbazida LP, 1700  
Difenilkarbazida P, 1700  
Difenilkarbazon LP, 1700  
Difenilkarbazon P, 1700  
Difenoksilat Hidroklorida, 317  
Difraksi Sinar-X, 1508  
Digesti Pankreatin Kasein P, 1700  
Digesti Papaik Tepung Kedelai P, 1701  
Digesti Peptik Jaringan Hewan P, 1702  
Digitalis Folium, 317  
Digitalis Powder, 318  
Digitalis Tablet, 319  
Digitoksin, 320  
Digitoxin Tablet, 321  
Digitoxin, 320  
Digoksin, 322  
Digoxin Tablet, 323  
Digoxin, 322  
Dihidroergotamin Mesilat, 324  
Dihidrostreptomisin Sulphate, 326  
Dihidroergotamin Mesylate, 324  
Dihydrostreptomycin Sulfate, 326  
Diisopropil Eter P, 1702  
Dikalium Fosfat P, 1702  
Dikalium Hidrogen Fosfat P, 1702  
Diklofenak Kalium, 327  
Diklofenak Natrium, 330  
Dikloksasilin Natrium Steril, 334  
Dikloksasilin Natrium Untuk Suspensi Oral, 335  
Dikloksasilin Natrium, 332  
1,2-Dikloroetana P, 1703  
Diklorofluoressein LP, 1703  
Diklorofluoressein P, 1703  
2,6-Diklorokuinon-Klorimida P, 1703  
Diklorokuinonkloroimina P, 1703  
Diklorometana P, 1703  
Diklorotetra Fluoroetana P, 1703  
Dikumarol, 336  
Diltiazem Hidroklorida, 336  
Diltiazem Hydrochloride Tablet, 338  
Diltiazem Hydrochloride, 336  
Diluted Alcohol, 401  
Diluted Isosorbide Dinitrate, 580  
Diluted Isosorbide Mononitrate, 584  
Diluted Nitroglycerin, 958  
Dimenhidrinat, 338  
Dimenhydrinate Tablet, 339  
Dimenhydrinate, 338  
Dimercaprol, 340  
Dimerkaprol, 340  
Dimethicone, 341  
Dimetikon, 341  
Dimetil Sulfoksida P, 1704  
Dimetilformamida P, 1704  
Dimetilglioksima P, 1704  
1,2-Dimetoksietana P, 1704  
Dinatrium Edetat P, 1704  
Dinatrium Edetat, 343  
Dinatrium Etilendiaminatetraasetat LP, 1704  
Dinatrium Etilendiaminatetraasetat P, 1704  
Dinatrium Etilendiaminatetraasetat 0,05 M LV, 1754  
Dinatrium Fosfat P, 1704  
Dinatrium Hidrogen Fosfat P, 1704  
Dinatrium Hidrogen Sifat P, 1704  
2,4-Dinitrofenilhidrazin P, 1704  
2,4-Dinitrofluorobenzen P, 1704  
Dioksan P, 1704  
Dioktil Natrium Sulfosuksinat P, 1704  
Diphenhydramine Hydrochloride Injection, 315  
Diphenhydramine Hydrochloride Oral Solution, 316  
Diphenhydramine Hydrochloride, 315

- Diphenoxylate Hydrochloride, 317  
Diphtheria and Tetanus Vaccine,  
Adsorbed, 1299  
Diphtheria, Tetanus and Pertussis  
Vaccine, Adsorbed, 1300  
Diphtheria Antitoxin, 563  
Dipikrilamina P, 1704  
Dipiridamol, 344  
 $\alpha$ - $\alpha'$ -Dipiridil P, 1704  
Disiandiamida P, 1704  
Disiklomin Hidroklorida, 345  
Disodium Edetate, 343  
Disopiramida Fosfat, 347  
Disopiramida, 346  
Disopyramide Phosphate Capsule, 347  
Disopyramide Phosphate, 347  
Disopyramide, 346  
5,5-Ditiobis (Asam 2-Nitrobenzoat) P,  
1704  
Ditizon LP (A), 1705  
Ditizon LP, 1705  
Ditizon P, 1704  
D-Manitol P, 1723  
Dobutamin Hidroklorida, 348  
Dobutamin untuk Injeksi, 351  
Dobutamine for Injection, 351  
Dobutamine Hydrochloride, 348  
Dobutamine Injection, 350  
Dodesil Natrium Sulfonat P, 1705  
Doksilamin Suksinat, 351  
Doksisiklin Hiklat, 353  
Doksisiklin, 352  
Doksorubisin Hidroklorida untuk  
Injeksi, 358  
Doksorubisin Hidroklorida, 356  
Dokusat Natrium P, 1705  
Domifen Bromida P, 1705  
Dopamin Hidroklorida, 358  
Dopamine Hydrochloride Injection,  
359  
Dopamine Hydrochloride, 358  
Doxorubicin Hydrochloride for  
Injection, 358  
Doxorubicin Hydrochloride, 356  
Doxycycline Hyclate Capsule, 355  
Doxycycline Hyclate Tablet, 356  
Doxycycline Hyclate, 353  
Doxycycline, 352  
Doxylamine Succinate, 351  
Dragendorff LP, 1705  
Dried Human Antihemophily Fraction,  
472  
Droperidol, 360  
Dydrogesterone Tablet, 311  
Dydrogesterone, 310  
Dypiridamol Tablet, 344  
Dypiridamol, 344
- E**
- Econazole Nitrat Cream, 365  
Econazole Nitrate, 364  
Edrofonium Klorida, 361  
Edrophonium Chloride, 361  
Efedrin Hidroklorida, 363  
Efedrin, 362  
Ekonazol Nitrat, 364  
Ekstrak Akar Manis, 70  
Ekstrak Beladona, 212  
Ekstrak Daging Sapi P, 1705  
Ekstrak dan Ekstrak Cair, 47  
Ekstrak Kering Hiosiamus, 545  
Ekstrak Ragi P, 1706  
Elastic Adhesive Dressing, 1005  
Elastisitas, 1510  
Elektroforesis, 1511  
Eliksir Deksametason, 277  
Emas Klorida LP, 1706  
Emas Klorida P, 1706  
Emetin Hidroklorida, 365  
Emetine Hydrochloride Injection, 366  
Emetine Hydrochloride, 365  
Emulsi, 46  
Emulsion, 46  
Enalapril Maleat, 367  
Enalapril Maleate Tablet, 368  
Enalapril Maleate, 367  
Endotoksin Bakteri, 1406  
Enfluran, 370  
Enflurane, 370  
Enzim Basa Fosfatase P, 1706  
Eosin Y LP, 1706  
Eosin Y P, 1706  
Ephedrine Hydrochloride Tablet, 363  
Ephedrine Hydrochloride, 363  
Ephedrine, 362  
Epinefrin Bitartrat, 372  
Epinephrine Bitartrate, 372  
Epinephrine Injection, 373  
Ergocalciferol, 374  
Ergokalsiferol, 374  
Ergometrin Maleat, 375  
Ergometrin Maleate Injection, 375  
Ergometrine Maleat Tablet, 377  
Ergonovin Maleat, 375  
Ergotamin Tartrat, 378  
Ergotamine Tartrate And Caffeine  
Tablet, 381  
Ergotamine Tartrate Injection, 379  
Ergotamine Tartrate Tablet, 380  
Ergotamine Tartrate, 378  
Eriokrom Sianin R LP, 1706  
Eriokrom Sianin R P, 1706  
Eritromisin Etilsuksinat Untuk  
Suspensi Oral, 387  
Eritromisin Etilsuksinat, 386  
Eritromisin Stearat, 388  
Eritromisin, 382  
Erythromycin Ethylsuccinate For Oral  
Suspension, 387  
Erythromycin Ethylsuccinate Tablet,  
387  
Erythromycin Ointment, 385  
Erythromycin Ethylsuccinate Oral  
Suspension, 386  
Erythromycin Ethylsuccinate, 386  
Erythromycin Stearate Tablet, 388  
Erythromycin Stearate, 388  
Erythromycin Tablet, 385  
Erythromycin, 382  
Estimasi Distribusi Ukuran Partikel  
Dengan Pengayak Analitik, 1514  
Estradiol Benzoat, 390  
Estradiol Benzoate, 390  
Estradiol Cypionate, 391  
Estradiol Sipionat, 391  
Estradiol, 389  
Estriol, 392  
Estrogen Terkonjugasi, 393  
Etakridin Laktat, 397  
Etambutol Hidroklorida, 397  
Etanal P, 1706  
Etanol 70% P, 80% P, 90% P, 1706  
Etanol Absolut P, 1706  
Etanol Absolut, 400  
Etanol Bebas Aldehida P, 1706  
Etanol Dehidrat P, 1706  
Etanol Encer P, 1707  
Etanol Encer, 401  
Etanol Mutlak P, 1707  
Etanol Mutlak, 400  
Etanol Netral P, 1707  
Etanol P, 1706  
Etanol, 399  
Etenzamida, 407  
Eter Bebas Peroksida P, 1707  
Eter Minyak Tanah P, 1707  
Eter Mutlak P, 1707  
Eter P, 1707  
Eter, 401  
Ethacridine Lactate, 397  
Ethambutol Hydrochloride Tablet, 398  
Ethambutol Hydrochloride, 397  
Ether, 401  
Ethinyl Estradiol, 405  
Ethinisterone, 406  
Ethosuximide, 412  
Ethoxybenzamide, 407  
Ethyl Chloride, 402  
Ethylestrenol, 403  
Ethylmorphine Chloride, 404  
Ethylparaben, 405  
Etil Alkohol Absolut P, 1707  
Etil Alkohol P, 1707  
Etil Asetat P, 1707  
Etil Benzoat P, 1707  
Etil Eter Anhidrat P, 1707  
Etil Eter P, 1707  
Etil Klorida, 402  
Etil Metil Keton P, 1707  
Etil Sianoasetat P, 1707  
1-Etilkuinaldinium Iodida P, 1708  
Etilen Glikol P, 1708  
Etilen Oksida dalam Metilen Klorida P,  
1707  
Etilen Oksida P, 1707  
Etilena Diklorida P, 1707  
Etilendiamina P, 1707  
Etilestrenol, 403  
Etilmorfin Hidroklorida, 404  
Etilparaben P, 1708  
Etilparaben, 405  
Etinil Estradiol, 405  
Etisteron, 406  
Etoksibenzamida, 407  
Etoposida, 408

Etoposide Capsule, 411  
Etoposide Injection, 409  
Etoposide, 408  
Etosuksimida, 412  
Eucalyptus Oil, 878  
Eugenol, 412  
Eukuinin, 745  
Extracts and Fluidextracts, 47

## F

Faktor Xa (Faktor X Teraktivasi) untuk Uji Antifaktor Xa P, 1708  
Famotidin, 413  
Famotidine Tablet, 414  
Famotidine, 413  
Fast Blue B, Garam P, 1708  
Fast Blue Bb, Garam P, 1708  
Fehling, Larutan, 1709  
Feksofenadin Hidroklorida, 415  
Felodipin, 422  
Felodipine, 422  
1,10-Fenantrolin Hidroklorida P, 1709  
1,10-Fenantrolin P, 1709  
Fenazopiridin Hidroklorida, 423  
Fenfluramin Hidroklorida, 424  
Fenil Eter P, 1709  
Fenilbutason, 426  
Fenilefrin Hidroklorida, 428  
3-Fenilfenol P, 1709  
Fenilhidrazin Hidroklorida P, 1709  
Fenilhidrazin-Asam Sulfat LP, 1709  
Fenilmerkuri Asetat, 429  
Fenilmerkuri Nitrat P, 1709  
Fenilmerkuri Nitrat, 430  
Fenilpropanolamin Hidroklorida, 431  
Fenilraksa(II) Asetat, 429  
Fenilraksa(II) Nitrat, 430  
Feniramin Maleat, 432  
Fenitoin Natrium, 435  
Fenitoin, 433  
Fenobarbital Natrium untuk Injeksi, 442  
Fenobarbital Natrium, 441  
Fenobarbital, 439  
Fenofibrat, 443  
Fenofibrate, 443  
Fenoksibenzamina Hidroklorida P, 1709  
Fenol Cair P, 1709  
Fenol Cair, 445  
Fenol Murni P, 1709  
Fenol P, 1709  
Fenol Sulfonftalein LP, 1709  
Fenol, 444  
Fenolftalein Encer LP, 1709  
Fenolftalein LP, 1709  
Fenolftalein P, 1709, 1746  
Fenolftalein, 445  
Fenoterol Hidrobromida, 446  
Fentanil Sitrat, 447  
Feri Klorida P, 1709  
Feroiin Sulfat LP, 1709  
Ferrous <sup>59</sup> Citrate Injection, 227

Ferrous Fumarate Tablet, 229  
Ferrous Fumarate, 227  
Ferrous Gluconate, 230  
Ferrous Sulfate, 231  
Fexofenadine Hydrochloride Capsule, 417  
Fexofenadine Hydrochloride Tablet, 419  
Fexofenadine Hydrochloride, 415  
Finasterid, 449  
Finasteride, 449  
Fitonadion, 450  
Floroglucinol P, 1710  
Flucloroloni Acetonidum, 457  
Flucloxacilline Sodium, 456  
Fludrocortisone Acetate, 452  
Fludrokortison Asetat, 452  
Flufenazin Dekanoat, 453  
Flufenazin Enantat, 454  
Flufenazin Hidroklorida, 455  
Flukloksasilin Natrium, 456  
Fluklorolon Asetonida, 457  
Fluocinolone Acetonide, 469  
Fluocortolone Hexanoate, 458  
Fluocortolone Pivalate, 459  
Fluokortolon Heksanoat, 458  
Fluokortolon Pivalat, 459  
Fluoksetin Hidroklorida, 460  
Fluoksimesteron P, 1710  
Fluoksimesteron, 465  
Fluorescein Sodium, 466  
Fluorescein Natrium, 466  
Fluoreskamina P, 1710  
1-Fluoro-2,4 Dinitrobenzen P, 1710  
Fluorouracil Injection, 468  
Fluorouracil, 466  
Fluorourasil, 466  
Fluosinolon Asetonida, 469  
Fluoxetine Capsule, 461  
Fluoxetine Hydrochloride, 460  
Fluoxetine Tablet, 463  
Fluoxymesterone, 465  
Fluphenazine Decanoate, 453  
Fluphenazine Enantate, 454  
Fluphenazine Hydrochloride Tablet, 456  
Fluphenazine Hydrochloride, 455  
Flurasepam Hidroklorida, 469  
Flurazepam Hydrochloride, 469  
Flurbiprofen Natrium, 471  
Flurbiprofen Sodium, 471  
Folic Acid Tablet, 154  
Folic Acid, 153  
Folin-Ciocalteu Fenol LP, 1710  
Formaldehida LP, 1710  
Formamida P, 1710  
Fosfor Pentoksida P, 1710  
Fraction Factor IX Desiccate, 473  
Fraksi Faktor IX Kering, 473  
Fraksi Faktor VIII Kering, 472  
Fraksi Protein Plasma, 475  
Framycetin Gauze Dressing, 632  
Fresh Frozen Plasma, 1031  
Ftalat Dikarbokaldehida P, 1710  
Fukhsin Basa P, 1710  
Fukhsin-Asam Sulfat LP, 1710

Furfural P, 1710  
Furosemida, 477  
Furosemide Injections, 478  
Furosemide Tablet, 479  
Furosemide, 477  
Fusidic Acid, 155

## G

Gabapentin Capsule, 482  
Gabapentin, 480  
Galaktosa P, 1710  
Gallium Citrate Ga<sup>67</sup> Injection, 483  
Garam Biru B Tahan Cuci P, 1710  
Garam Empedu P, 1710  
Garam Fast Blue B P, 1711  
Garam Inggris, 806  
Garam Natrium Asam 1-Pentasulfonat P, 1710  
Garam Natrium Asam Kromotropat P, 1710  
Garam Nitroso R P, 1711  
Garam Oralit, 484  
Gel Aluminium Hidroksida Kering, 99  
Gel Aluminium Hidroksida, 98  
Gel Asam Retinoat, 162  
Gel Benzoil Peroksida, 223  
Gel, 47  
Gelatin LP, 1711  
Gelatin Sponge, 1214  
Gelatin, 487  
Gel, 47  
Gemfibrosil, 488  
Gemfibrozil Capsule, 489  
Gemfibrozil Tablet, 490  
Gemfibrozil, 488  
Gentamisin Sulfat, 491  
Gentamycin Sulfate Cream, 493  
Gentamycin Sulfate Injection, 492  
Gentamycin Sulfate Ointment, 493  
Gentamycin Sulfate Ophthalmic Ointment, 493  
Gentamycin Sulfate Ophthalmic Solution, 494  
Gentamycin Sulfate, 491  
Gentian Violet, 494  
Gips Pembalut, 495  
Glacial Acetic Acid, 144  
Glibenclamide Tablet, 498  
Glibenclamide, 496  
Glibenklamida, 496  
Gliklazide Tablet, 500  
Gliklazide, 499  
Gliklazida, 499  
Glimepirida, 501  
Glimepiride Tablet, 503  
Glimepiride, 501  
Glioksal-Bis(-2-Hidroksianil) P, 1711  
Glipizida, 504  
Glipizide Tablet, 506  
Glipizide, 504  
Gliseril Guaiakolat, 515  
Gliserin, 507  
Gliserol P, 1711



Glisin P, 1711  
Glisin, 509  
Glukosa, 296  
Glutetimida, 509  
Glutetimide, 509  
Glycerin, 507  
Glycine, 509  
Glycyrrhizae Radix, 69  
Glycyrrhizae Succus, 70  
Gom Akasia, 510  
Gom Arab, 510  
Gonadotropin Korionik untuk Injeksi, 513  
Gonadotropin Korionik, 512  
Granul Zink P, 1711  
Griseofulvin Tablet, 515  
Griseofulvin, 513  
Guaifenesin Tablet, 517  
Guaifenesin, 515  
Guanin Hidroklorida P, 1711  
Gum Acacia, 510

## H

Halcinonide, 521  
Haloperidol Injection, 518  
Haloperidol Tablet, 519  
Haloperidol, 518  
Halotan, 520  
Halothane, 520  
Halsinonida, 521  
Heksadesil Heksadekanoat P, 1711  
Heksaklorofen, 522  
Heksametildisilazana P, 1711  
Heksamin P, 1712  
Heksana P, 1712  
Heksana Pelarut P, 1712  
Heksanitrodifenilamina P, 1712  
Heksilamina P, 1712  
Helium P, 1712  
Heparin Natrium, 523  
Heparin Sodium Injection, 525  
Heparin Sodium, 523  
Hepatitis B Immunoglobulin, 559  
Hepatitis B Vaccine Human Plasma Origin, 1301  
Herba Beladona, 213  
Hexachlorophene, 522  
Hidralazin Hidroklorida, 525  
Hidrazin Hidrat P, 85% dalam Air, 1712  
Hidrazin Sulfat P, 1712  
Hidrogen Peroksida LP, 1713  
Hidrogen Peroksida P, 1712  
Hidrogen Peroksida Pekat, 528  
Hidrogen Sulfida LP, 1713  
Hidrogen Sulfida P, 1713  
Hidroklorotiazid, 530  
Hidrokortison Asetat, 534  
Hidrokortison Butirat, 536  
Hidrokortison, 533  
4-Hidroksibifenil P, 1714  
Hidroksilamin Hidroklorida LP, 1713  
Hidroksilamin Hidroklorida P, 1713

Hidroksiprogesteron Kaproat, 538  
Hidroksitoluen Terbutilasi P, 1713  
Hidroksizin Hidroklorida, 539  
Hidroksokobalamin, 540  
Hidrokuinon P, 1713  
Hidrokuinon, 529  
Hijau Berlian P, 1713, 1746  
Hijau Bromokresol LP, 1713  
Hijau Bromokresol P, 1713, 1746  
Hijau Malakit LP, 1713  
Hijau Malakit Oksalat P, 1713, 1746  
Hijau Malakit P, 1713  
Hijau Metil P, 1713  
Hiosiamin Sulfat, 542  
Hiosin Butilbromida, 545  
Hipoksantin P, 1713  
Hitam Eriokrom T LP, 1713  
Hitam Eriokrom T P, 1713, 1746  
Hitam Eriokrom T, Encer, 1725, 1746  
Hitam Mordant 11 P, 1713  
Hitam Mordant Campur P, 1713  
Hitam Naftalen 12 B P, 1713  
Hitam Naftalen LP, 1713  
Holmium Oksida P, 1713  
Holmium Perklorat LP, 1713  
Homatropin Hidrobromida P, 1714  
Homatropin Hidrobromida, 549  
Homatropine Hydrobromide Ophthalmic Solution, 550  
Homatropine Hydrobromide, 549  
Human Albumin Solution, 72  
Hydralazine Hydrochloride, 525  
Hydrochloric Acid, 156  
Hydrochlorothiazide Tablet, 531  
Hydrochlorothiazide, 530  
Hydrocortisone Acetate Cream, 536  
Hydrocortisone Acetate, 534  
Hydrocortisone Butyrate, 536  
Hydrocortisone Ointment, 534  
Hydrocortisone, 533  
Hydrogene Peroxide Concentrate, 528  
Hydrogene Peroxide Solution Topical, 527  
Hydroquinone Cream, 529  
Hydroquinone, 529  
Hydrous Benzoyl Peroxide, 225  
Hydroxizine Hydrochloride, 539  
Hydroxocobalamin, 540  
Hydroxyprogesterone Caproate Injection, 538  
Hydroxyprogesterone Caproate, 538  
Hyoscine Butylbromide, 545  
Hyoscine Hydrobromide Injection, 547  
Hyoscyamine Sulfate, 542  
Hyoscyamus Dried Extract, 545  
Hyoscyamus Herbs, 543

## I

Ibuprofen Oral Suspension, 552  
Ibuprofen Tablet, 554  
Ibuprofen, 551  
Ichtammol, 557

Identifikasi Basa Nitrogen Organik, 1420  
Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis, 1421  
Identifikasi Serat, 1518  
Identifikasi Tetrasiklin, 1420  
Idoxuridin, 555  
Idoxuridine Ophthalmic Ointment, 556  
Idoxuridine, 555  
Ikhtamol, 557  
Ikhtiol, 557  
Imidazol P, 1714  
Iminostilben P, 1714  
Imipramin Hidroklorida, 557  
Imipramine Hydrochloride, 557  
Immunosera, 47  
Implan, 48  
Implant, 48  
Imunoglobulin Tetanus, 562  
Imunoglobulin Campak, 559  
Imunoglobulin Hepatitis B, 559  
Imunoglobulin Normal, 560  
Imunoglobulin Rabies, 561  
Imunoserum Botulinum, 562  
Imunoserum Difteri, 563  
Imunoserum Tetanus, 564  
Imunoserum, 47  
Indeks Pengembangan, 1519  
Indigo Karmin LP, 1714  
Indigo Karmin LV, 1754  
Indigo Karmin P, 1714  
Indikator Biologik untuk Sterilisasi, 1633  
Indium <sup>111</sup>In Oxyquinoline Solution, 565  
Indium <sup>111</sup>In Pentetate Injection, 565  
Indofenol-Asetat LP, 1714  
Indometasin, 566  
Indomethacin Capsule, 567  
Indomethacin, 566  
Inhalasi, 48  
Inhalation, 48  
Injeksi Albumin Teriodinasi <sup>125</sup>I, 73  
Injeksi Albumin Teriodinasi <sup>131</sup>I Teragregasi, 74  
Injeksi Albumin Teriodinasi <sup>131</sup>I, 74  
Injeksi Amfetamin Sulfat, 103  
Injeksi Amikasin Sulfat, 108  
Injeksi Aminofilin, 112  
Injeksi Asam Askorbat, 150  
Injeksi Atrakurium Besilat, 189  
Injeksi Atropin Sulfat, 191  
Injeksi Besi(II)<sup>59</sup> Sitrat, 227  
Injeksi Betametason Natrium Fosfat, 239  
Injeksi Biperiden Laktat, 243  
Injeksi Biru Metilen, 863  
Injeksi Bupivakain Hidroklorida, 262  
Injeksi Deksametason Natrium Fosfat, 283  
Injeksi Deksametason, 278  
Injeksi Dekstran 40, 291  
Injeksi Dekstran 70, 293  
Injeksi Dekstrosa, 297  
Injeksi Deslanosida, 301  
Injeksi Diazepam, 304

- Injeksi Difenhidramin Hidroklorida, 315  
Injeksi Dobutamin, 350  
Injeksi Dopamin Hidroklorida, 359  
Injeksi Emetin Hidroklorida, 366  
Injeksi Epinefrin, 373  
Injeksi Ergometrin Maleat, 376  
Injeksi Ergonovin Maleat, 376  
Injeksi Ergotamin Tartrat, 379  
Injeksi Etoposida, 409  
Injeksi Fenitoin Natrium, 437  
Injeksi Fenobarbital Natrium, 442  
Injeksi Fentanil Sitrat, 448  
Injeksi Fitonadion, 451  
Injeksi Fluorourasil, 468  
Injeksi Furosemda, 478  
Injeksi Galium <sup>67</sup>Ga Sitrat, 483  
Injeksi Gentamisin Sulfat, 492  
Injeksi Glukosa, 297  
Injeksi Haloperidol, 518  
Injeksi Heparin Natrium, 525  
Injeksi Hidroksiprogesteron Kaproat, 538  
Injeksi Indium <sup>111</sup>In Pentetat, 565  
Injeksi Insulin Netral, 571  
Injeksi Isosuprin Hidroklorida, 577  
Injeksi Kalsium Glukonat, 601  
Injeksi Kalsium Klorida, 604  
Injeksi Kanamisin Sulfat, 609  
Injeksi Ketamin Hidroklorida, 635  
Injeksi Ketorolak Trometamin, 641  
Injeksi Klindamisin, 659  
Injeksi Klonidin Hidroklorida, 677  
Injeksi Klorfeniramin Maleat, 700  
Injeksi Klorokuin Hidroklorida, 710  
Injeksi Klorpromazin Hidroklorida, 712  
Injeksi Kofein Sitrat, 729  
Injeksi Kortikotropin, 736  
Injeksi Leukovorin Kalsium, 764  
Injeksi Lidokain Hidroklorida Dan Epinefrin, 778  
Injeksi Lidokain Hidroklorida, 777  
Injeksi Lignokain Hidroklorida, 777  
Injeksi Linkomisin Hidroklorida, 781  
Injeksi Luminal Natrium, 442  
Injeksi Magnesium Sulfat, 807  
Injeksi Manitol, 811  
Injeksi Menadion, 830  
Injeksi Metilergometrin Maleat, 854  
Injeksi Metilergonovin Maleat, 854  
Injeksi Metiltionin Klorida, 863  
Injeksi Metoklopramida Hidroklorida, 865  
Injeksi Metotreksat, 871  
Injeksi Metronidazol, 873  
Injeksi Morfin Sulfat, 888  
Injeksi Nandrolon Dekanoat, 895  
Injeksi Nandrolon Fenpropionat, 897  
Injeksi Natrium Bikarbonat, 909  
Injeksi Natrium Fosfat <sup>32</sup>P, 911  
Injeksi Natrium Iodohipurat <sup>125</sup>I, 915  
Injeksi Natrium Iodohipurat <sup>131</sup>I, 916  
Injeksi Natrium Klorida Majemuk, 918  
Injeksi Natrium Klorida P, 1714  
Injeksi Natrium Klorida, 918  
Injeksi Natrium Kromat <sup>51</sup>Cr, 919  
Injeksi Natrium Perteknetat <sup>99m</sup>Tc, 924  
Injeksi Natrium Subkarbonat, 909  
Injeksi Natrium Tiosulfat, 928  
Injeksi Neostigmin Metilsulfat, 931  
Injeksi Nitroglicerin, 960  
Injeksi Oksitosin, 977  
Injeksi Ondansetron, 985  
Injeksi Pankuronium Bromida, 994  
Injeksi Papaverin Hidroklorida, 995  
Injeksi Petidin Hidroklorida, 1012  
Injeksi Prokain Hidroklorida, 1059  
Injeksi Prometazin Hidroklorida, 1063  
Injeksi Propranolol Hidroklorida, 1068  
Injeksi Protamin Sulfat, 1078  
Injeksi Ranitidin, 1084  
Injeksi Ringer Laktat, 1105  
Injeksi Ringer, 918, 1104  
Injeksi Ros Bengal Natrium <sup>131</sup>I, 1116  
Injeksi Sefazolin, 1138  
Injeksi Sefotaksim, 1150  
Injeksi Seftazidim, 1159  
Injeksi Seftizoksim, 1163  
Injeksi Seftriakson, 1165  
Injeksi Sianokobalamin, 1175  
Injeksi Skopolamin Hidrobromida, 1208  
Injeksi Streptomisin, 1223  
Injeksi Sufentanil Sitrat, 1226  
Injeksi Sulfametoksazol dan Trimetoprim, 1235  
Injeksi Talium <sup>201</sup>Ti Klorida, 1245  
Injeksi Tiamin Hidroklorida, 1266  
Injeksi Tobramisin, 1277  
Injeksi Verapamil Hidroklorida, 1315  
Injeksi Vitamin B1, 1266  
Injeksi Vitamin C, 150  
Injeksi Zidovudin, 1327  
Inositol Nicotinate, 568  
Inositol Nikotinat, 568  
Insulin, 569  
Iodinated <sup>125</sup>I Albumin Injection, 73  
Iodinated <sup>131</sup>I Albumin Aggregated Injections, 74  
Iodinated <sup>131</sup>I Albumin Injections, 74  
Iodine Tincture, 572  
Iodine, 571  
Iodobromida LP, 1714  
Iodohipurate Sodium <sup>125</sup>I Injection, 915  
Iodohipurate Sodium <sup>131</sup>I Injection, 916  
Iodoklorhidroksikuinolin, 663  
Iodoklorida LP, 1714  
Iodoplatinat LP, 1714  
Iodum 0,1 N LV, 1754  
Iodum Bromida P, 1714  
Iodum LP, 1714  
Iodum Monoklorida P, 1714  
Iodum P, 1714  
Iodum Tingtur, 572  
Iodum, 571  
Iodum-Kalium Iodida LP, 1714  
Ipecacuanhae Radix, 65  
Irbesartan and Hydrochlorothiazide Tablet, 575  
Irbesartan Tablet, 574  
Irbesartan, 572  
Irigasi, 48  
Irrigation, 48  
Isi Kolom Untuk Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, 1714  
Isi Kolom Untuk Kromatografi Gas P, 1714  
Isi Minimum, 1519  
Isoamil Alkohol P, 1714  
Isobutil Alkohol P, 1714  
Isosuprin Hidroklorida, 576  
Isoniazid P, 1714  
Isoniazid Tablet, 579  
Isoniazid, 578  
Isooktana P, 1714  
Isopentil Alkohol P, 1714  
Isopropanol Dehidrat P, 1714  
Isopropanol P, 1714  
Isopropil Alkohol P, 1714  
Isopropil Eter P, 1714  
Isopropil Miristat P, 1714  
Isopropilamin P, 1714  
Isosorbid Dinitrat Encer, 580  
Isosorbid Mononitrat Encer, 584  
Isosorbide Dinitrate Extended-Release Tablet, 581  
Isosorbide Dinitrate Sublingual Tablet, 583  
Isosorbide Dinitrate Tablet, 581  
Isosorbide Mononitrate Extended-Release Tablet, 588  
Isosorbide Mononitrate Tablet, 586  
Isoxsuprine Hydrochloride Injection, 577  
Isoxsuprine Hydrochloride, 576
- ## J
- Jingga Metil P, 1715, 1746  
Jingga Xilenol Campur P, 1715  
Jingga Xilenol LP, 1715  
Jingga Xilenol P, 1715, 1746  
Jumlah Benang Per Satuan Panjang, 1519
- ## K
- Kadar Zink Oksida dalam Massa Perekat, 1440  
Kadmium Asetat P, 1715  
Kadmium P, 1715  
Kadmium Sulfat P, 1715  
Kalamina, 593  
Kalium Antimonat LP, 1716  
Kalium Antimonat P, 1715  
Kalium Arsenit 0,1 N LV, 1755  
Kalium Asetat LP, 1716  
Kalium Asetat P, 1716  
Kalium Besi(III) Sianida P, 1716  
Kalium Bifosfat P, 1716  
Kalium Bikromat LP, 1716  
Kalium Bikromat P, 1716

- Kalium Bismut Iodida LP, 1716  
Kalium Bisulfat P, 1716  
Kalium Bromat 0,1 N LV, 1755  
Kalium Bromat P, 1716  
Kalium Bromida Ir P, 1716  
Kalium Bromida P, 1716  
Kalium Bromida-Bromat 0,1 N LV, 1755  
Kalium Dihidrogen Fosfat P, 1716  
Kalium Ferisianida P, 1716  
Kalium Ferosianida P, 1716  
Kalium Fosfat Dibasa P, 1716  
Kalium Fosfat Monobasa P, 1716  
Kalium Heksasianoferat(II) LP, 1716  
Kalium Heksasianoferat(II) P, 1716  
Kalium Heksasianoferat(III) LP, 1716  
Kalium Hidroksida I N LV, 1755  
Kalium Hidroksida Etanol 0,5 N LV, 1755  
Kalium Hidroksida Etanol P, 1717  
Kalium Hidroksida Lp, 1717  
Kalium Hidroksida Metanol 0,1 N LV, 1755  
Kalium Hidroksida P, 1717  
Kalium Iodat 0,05 M LV, 1756  
Kalium Iodat P, 1717  
Kalium Iodida LP, 1717  
Kalium Iodida P, 1717  
Kalium Iodida, 593  
Kalium Iodobismutat Asetat LP, 1717  
Kalium Iodobismutat Encer LP, 1717  
Kalium Iodobismutat LP, 1717  
Kalium Iodobismutat Termodifikasi LP, 1717  
Kalium Iodoplatinat LP, 1717  
Kalium Karbonat Anhidrat P, 1717  
Kalium Karbonat P, 1717  
Kalium Klorat P, 1717  
Kalium Klorida Ir P, 1717  
Kalium Klorida, 594  
Kalium Kloroplatinat P, 1717  
Kalium Kromat LP, 1717  
Kalium Kromat P, 1717  
Kalium Natrium Tartrat P, 1717  
Kalium Nitrat P, 1717  
Kalium Nitrit P, 1717  
Kalium Permanganat 0,1 N LV, 1756  
Kalium Permanganat LP, 1717  
Kalium Permanganat P, 1717  
Kalium Permanganat, 595  
Kalium Piro sulfat P, 1717  
Kalium Raksa(II)-Iodida Alkalis LP, 1718  
Kalium Raksa(II)-Iodida LP, 1717  
Kalium Sianida LP, 1718  
Kalium Sianida P, 1718  
Kalium Sianida Pbt LP, 1718-  
Kalium Sulfat P, 1718  
Kalium Sulfoguaiakolat, 595  
Kalium Telurit P, 1718  
Kalium Tembaga(II) Tartrat LP, 1718  
Kalium Tiosianat P, 1718  
Kalkon Campuran P, 1718  
Kalkon P, 1718  
Kalsitriol, 596  
Kalsium Asetat Anhidrat P, 1718  
Kalsium Asetat P, 1718  
Kalsium Fosfat Dibasa Anhidrat, 597  
Kalsium Glukonat, 599  
Kalsium Hidrogen Fosfat Anhidrat, 597  
Kalsium Hidroksida LP, 1718  
Kalsium Hidroksida P, 1718  
Kalsium Hidroksida, 601  
Kalsium Karbonat P, 1718  
Kalsium Karbonat, 602  
Kalsium Klorida Anhidrat P, 1718  
Kalsium Klorida LP, 1718  
Kalsium Klorida P, 1718  
Kalsium Klorida, 604  
Kalsium Laktat, 605  
Kalsium Pantotenat P, 1718  
Kalsium Pantotenat, 606  
Kalsium Sulfat LP, 1718  
Kalsium Sulfat P, 1718  
Kalsium Sulfat, 606  
Kamfer, 607  
Kanamisin Sulfat, 607  
Kanamycin Sulphate Capsule, 609  
Kanamycin Sulphate Injection, 607  
Kanamycin Sulphate, 607  
Kandungan Antiseptik Dalam Pembalut, 1440  
Kandungan Zat Antimikroba, 1441  
Kanji Iodida, Pasta LP, 1719  
Kanji Larut P, 1719  
Kanji LP, 1718  
Kanji P, 1718  
Kanji, Lendir LP, 1719  
Kanji-Kalium Iodida LP, 1719  
Kaolin Ringan P, 1719  
Kaolin Ringan, 610  
Kaolin, Suspensi LP, 1719  
Kapas Murni, 611  
Kapas Tidak Berlemak, 611  
Kapasitas Penetralkan Asam, 1444  
Kapsul Amoksisilin, 121  
Kapsul Ampisilin, 129  
Kapsul Asam Mefenamat, 157  
Kapsul Asam Valproat, 168  
Kapsul Asebutolol Hidroklorida, 171  
Kapsul Azitromisin, 199  
Kapsul Demeklosiklin Hidroklorida, 299  
Kapsul Dikloksasilin Natrium, 334  
Kapsul Disopiramide Fosfat, 347  
Kapsul Doksisisiklin Hikat, 355  
Kapsul Etoposida, 411  
Kapsul Feksofenadin Hidroklorida, 417  
Kapsul Fenitoin Natrium, 438  
Kapsul Fluoksetin, 461  
Kapsul Gabapentin, 482  
Kapsul Gemfibrosil, 489  
Kapsul Indometasin, 567  
Kapsul Kanamisin Sulfat, 609  
Kapsul Ketoprofen, 639  
Kapsul Klindamisin Hidroklorida, 661  
Kapsul Klofazimin, 667  
Kapsul Klomipramin Hidroklorida, 673  
Kapsul Kloramfenikol, 685  
Kapsul Klordiazepoksida Hidroklorida dan Klidinium Bromida, 697  
Kapsul Klordiazepoksida Hidroklorida, 695  
Kapsul Lepas Tunda Lansoprazol, 759  
Kapsul Lepas Tunda Omeprazol, 980  
Kapsul Linkomisin Hidroklorida, 782  
Kapsul Loperamide Hidroklorida, 786  
Kapsul Natrium Iodida <sup>123</sup>I, 912  
Kapsul Natrium Iodida <sup>131</sup>I, 913  
Kapsul Nifedipin, 939  
Kapsul Nitrofurantoin, 955  
Kapsul Piroksikam, 1030  
Kapsul Rifampisin dan Isoniazid, 1098  
Kapsul Rifampisin, 1095  
Kapsul Sefadrokasil, 1125  
Kapsul Sefaktor, 1129  
Kapsul Sefaleksin, 1132  
Kapsul Sefradin, 1155  
Kapsul Sianokobalamin <sup>57</sup>Co, 1176  
Kapsul Sikloserin, 1183  
Kapsul Stavudin, 1218  
Kapsul Tetrasiklin Fosfat Kompleks, 1263  
Kapsul Tetrasiklin Hidroklorida, 1260  
Kapsul Zidovudin, 1328  
Kapsul, 49  
Kaptopril, 612  
Karbamazepin, 614  
Karbidoopa, 618  
Karbonamin Maleat, 619  
Karboksimetil selulosa Natrium, 620  
Karbomer P, 1719  
Karbon Aktif P, 1719  
Karbon Dekolorisasi P, 1719  
Karbon Dioksida P, 1719  
Karbon Dioksida, 620  
Karbon Disulfida P, 1719  
Karbon Organik Total, 1520  
Karbon Tetraklorida P, 1719  
Karboplatin untuk Injeksi, 623  
Karboplatin, 621  
Karisoprodol, 624  
Karvedilol, 626  
Kasa Pembalut Framisetin, 632  
Kasa Pembalut Klorheksidin, 633  
Kasa Pembalut, 630  
Kasein P, 1719  
Katekol P, 1719  
Kejernihan dan Warna Larutan, 1521  
Kelarutan dalam Etanol, 1445  
Kerapatan Serbuk Ruahan dan Serbuk Mampat, 1523  
Kertas Fenolftalein P, 1748  
Kertas Kanji Iodida P, 1748  
Kertas Kuning Tiazol P, 1748  
Kertas Lakmus Biru P, 1748  
Kertas Lakmus Merah P, 1748  
Kertas Merah Kongo P, 1748  
Kertas Metil Hijau-Raksa Iodida P, 1748  
Kertas Raksa(II) Bromida P, 1748  
Kertas Saring, Kuantitatif, 1719  
Kertas Tembaga(II) Sulfat P, 1748  
Kertas Timbal(II) Asetat P, 1748

- Kesempurnaan Melarut, 1526  
Keseragaman Sediaan, 1526  
Kesetaraan Natrium Klorida  
Dan Penurunan Titik Beku ( $^{\circ}$ ),  
1788  
Ketahanan Terhadap Air, 1529  
Ketamin Hidroklorida, 634  
Ketamine Hydrochloride, 634  
Ketamine Hydrochloride Injection, 635  
Ketentuan Umum, 33  
Ketoconazole Tablet, 637  
Ketoconazole, 636  
Ketokonazol, 636  
Ketoprofen Capsule, 639  
Ketoprofen, 638  
Ketorolac Tromethamine Injection, 641  
Ketorolac Tromethamine Tablet, 642  
Ketorolac Tromethamine, 640  
Ketorolak Trometamin, 640  
Kieselgur P, 1719  
Kimotripsin, 643  
Klaritromisin untuk Suspensi Oral, 646  
Klaritromisin, 644  
Klavulanat Kalium, 651  
Klemastin Fumarat, 654  
Klidinium Bromida, 657  
Klindamisin Fosfat, 658  
Klindamisin Hidroklorida, 660  
Klindamisin Palmitat Hidroklorida,  
662  
Klindamisin untuk Injeksi, 660  
Kliokuinol, 663  
Klobetasol Propionat, 664  
Klofazimin, 666  
Kloksasillin Natrium, 668  
Klomifen Sitrat, 669  
Klomipramin Hidroklorida, 671  
Klonazepam, 674  
Klonidin Hidroklorida, 676  
Klopidogrel Bisulfat, 679  
Klor LP, 1719  
Klor P, 1719  
Kloral Hidrat, 682  
Kloralhidrat LP, 1719  
Kloralhidrat P, 1719  
Klorambusil, 683  
Kloramfenikol Natrium Suksinat untuk  
Injeksi, 689  
Kloramfenikol Natrium Suksinat, 688  
Kloramfenikol Palmitat, 690  
Kloramfenikol, 684  
Kloramin T P, 1719  
Klorbutol Anhidrat, 706  
Klorbutol, 706  
Klordiazepoksida Hidroklorida, 694  
Klordiazepoksida, 692  
Klorfeniramin Maleat, 699  
Klorheksidin Asetat P, 1719  
Klorheksidin Asetat, 701  
Klorheksidin Hidroklorida, 704  
Klorin LP, 1720  
Klorobenzen P, 1720  
Klorobutanol Anhidrat, 706  
1-Klorobutan P, 1720  
Klorobutanol P, 1720  
Klorobutanol, 706  
Kloroform Bebas Etanol P, 1720  
Kloroform P, 1720  
Kloroform, 707  
Klorokresol, 707  
Klorokuin Fosfat, 708  
Klorokuin Sulfat, 710  
Klorokuin, 708  
Klorotrimetilsilan P, 1720  
Klorpromazin Hidroklorida, 712  
Klorpropamida, 715  
Klortalidon, 717  
Klorzoksazon, 719  
Klotrimazol, 721  
Kobalt(II) Asetat P, 1720  
Kobalt(II) Klorida LK, 1751  
Kobalt(II) Klorida LP, 1720  
Kobalt(II) Klorida P, 1720  
Kobalt(II) Nitrat P, 1720  
Kobalt(II) Uranil Asetat LP, 1720  
Kodein Fosfat P, 1720  
Kodein Fosfat, 725  
Kodein Hidroklorida, 727  
Kodein, 724  
Kofein, 728  
Kokain Hidroklorida, 730  
Kolekalsiferol, 731  
Kolin Klorida P, 1720  
Kolistin Sulfat, 733  
Kolkhisin, 734  
Koloidal Atapulgit Teraktivasi, 559  
Konduktivitas Air, 1529  
Kortikotropin untuk Injeksi, 738  
Kortison Asetat, 738  
Kreolin, 742  
Kresol, 742  
Krim Asam Retinoat, 163  
Krim Asiklovir, 181  
Krim Betametason Dipropionat, 236  
Krim Betametason Valerat, 241  
Krim Ekonazol Nitrat, 365  
Krim Gentamisin Sulfat, 493  
Krim Hidrokortison Asetat, 536  
Krim Hidrokuinon, 529  
Krim Klobetasol Propionat, 666  
Krim Kloramfenikol, 686  
Krim Klotrimazol, 722  
Krim Mikonazol Nitrat, 876  
Krim Mometason Furoat, 885  
Krim Nistatin, 950  
Krim Prednisolon, 1049  
Krim Tretinoin, 1284  
Krim, 51  
Kristal Violet LP, 1720  
Kristal Violet P, 1720, 1746  
Krom Azurol S P, 1720  
Kromatografi, 1531  
Kromium Trioksida P, 1720  
Ksin Basil Calmette-Guerin Beku  
Kering, - 1193 -  
Kuinalizarin P, 1721  
Kuinin Sulfat, 743  
Kuinin Etilkarbonat, 745  
Kuinin Hidroklorida, 747  
Kuinin Sulfat, 748  
Kulit Kina, 750  
Kuning Tiazol P, 1721  
Kuning Titan LP, 1721  
Kuning Titan P, 1721

## L

- Lakmus LP, 1721  
Lakmus P, 1721, 1746  
Laktofenol P, 1721  
Laktosa Anhidrat, 752  
Laktosa Monohidrat, 753  
Laktosa P, 1721  
Lamivudin, 754  
Lamivudine, 754  
Lanatosida C, 756  
Lanatoside C, 756  
Lanolin, 760  
Lansoprazol, 757  
Lansoprazole Delayed-Released  
Capsule, 759  
Lansoprazole, 757  
Lantanum Klorida P, 1721  
Lantanum Nitrat P, 1721  
L-Arabinosa P, 1685  
Larutan Albumin, 72  
Larutan Amonia Encer P, 1721  
Larutan Asetilsistein, 177  
Larutan Baku Arsen (1 bpj As), 1721  
Larutan Baku Arsen (10 bpj As), 1721  
Larutan Baku Besi (10 bpj Fe), 1721  
Larutan Baku Besi (2 bpj Fe), 1721  
Larutan Baku Besi (20 bpj Fe), 1721  
Larutan Baku Diklorofenol-Indofenol  
LV, 1756  
Larutan Baku Magnesium (10 bpj Mg),  
1721  
Larutan Baku Nitrat (100 bpj NO<sub>3</sub>),  
1721  
Larutan Baku Perak (5 bpj Ag), 1721  
Larutan Baku Raksa (5 bpj Hg), 1721  
Larutan Baku Tembaga (10 bpj Cu),  
1721  
Larutan Baku Timbal (1 bpj Pb), 1721  
Larutan Baku Timbal (10 bpj Pb), 1721  
Larutan Baku Timbal (20 bpj Pb), 1721  
Larutan Dapar, 1749  
Larutan Empirik, 1751  
Larutan Fehling, 1721  
Larutan Indium <sup>111</sup>In Oksikuinolin, 565  
Larutan Klorheksidin Glukonat, 702  
Larutan Kolorimetrik, 1751  
Larutan Molar, 1751  
Larutan Natrium Iodida <sup>123</sup>I, 913  
Larutan Natrium Iodida <sup>131</sup>I, 914  
Larutan Natrium Klorida Isotonik,  
1721  
Larutan Normal, 1751  
Larutan Oral Metadon Hidroklorida,  
842  
Larutan Oral Deksklorfeniramin  
Hidroklorida, 286  
Larutan Oral Kloramfenikol, 686  
Larutan Oral Loratadin, 790  
Larutan Oral Metoklopramid  
Hidroklorida, 866

Larutan Oral Parasetamol, 999  
Larutan Oral Sianokobalamin <sup>57</sup>Co, 1176  
Larutan Oral Siklosporin, 1185  
Larutan Oral Zidovudin, 1329  
Larutan Oral-Topikal Lidokain Hidroklorida, 777  
Larutan Oral-Topikal Lignokain Hidroklorida, 777  
Larutan Pekat Siklosporin untuk Injeksi, 1186  
Larutan Protein Plasma, 475  
Larutan Timah(II) Klorida Ast, 1722  
Larutan Topikal Hidrogen Peroksida, 527  
Larutan Topikal Kalsium Hidroksida, 602  
Larutan Topikal Klotrimazol, 723  
Larutan Topikal Povidon Iodum, 1040  
Larutan Volumetrik (LV), 1751  
Larutan, 51  
Lemak Bulu Domba, 760  
Lemak dan Minyak Lemak, 1450  
Lembayung Azo P, 1722, 1746  
Lembayung Metil LP, 1722  
Leucovorin Calcium Injection, 764  
Leucovorin Calcium, 764  
Leucovorin Calcium Tablet, 765  
Leukovorin Kalsium, 764  
Levamisol Hidroklorida, 766  
Levamisole Hydrochloride Tablet, 767  
Levamisole Hydrochloride, 766  
Levodopa, 769  
Levonorgestrel and Ethynil Estradiol Tablet, 771  
Levonorgestrel, 770  
Levothyroxine Sodium Tablet, 774  
Levothyroxine Sodium, 772  
Levotiroksin Natrium, 772  
Lidocaine Hydrochloride and Epinephrine Injection, 778  
Lidocaine Hydrochloride Injection, 777  
Lidocaine Hydrochloride Oral-Topical Solution, 777  
Lidocaine Hydrochloride, 776  
Lidokain Hidroklorida, 776  
Light Kaolin, 610  
Lignokain Hidroklorida, 776  
Lincomycin Hydrochloride Capsule, 782  
Lincomycin Hydrochloride Injection, 781  
Lincomycin Hydrochloride, 780  
Linestrenol, 779  
Linkomisin Hidroklorida, 780  
Lisin Asetat, 782  
Lisinopril Tablet, 784  
Lisinopril, 783  
Litium Hidroksida P, 1722  
Litium Klorida P, 1722  
Litium Metoksida Benzen 0,1 N, 1722  
Litium Metoksida Benzena 0,1 N LV, 1756  
Litium Metoksida Klorobenzen 0,1 N LV, 1756

Litium Metoksida Klorobenzen 0,1 N, 1722  
Litium P, 1722  
Litium Sulfat P, 1722  
L-Lisin P, 1722  
Locke-Ringer LP, 1722  
Loperamida Hidroklorida, 786  
Loperamide Hydrochloride Capsule, 786  
Loperamide Hydrochloride Tablet, 787  
Loperamide Hydrochloride, 786  
Loratadin, 788  
Loratadine Oral Solution, 790  
Loratadine Tablet, 792  
Loratadine, 788  
Lorazepam Tablet, 794  
Lorazepam, 793  
Losartan Kalium, 796  
Losartan Potassium Tablet, 798  
Losartan Potassium, 796  
Losio Nistatin, 950  
Lovastatin Tablet, 801  
Lovastatin, 800  
L-Ramosa P, 1737  
L-Sistin P, 1738  
L-Tosilaminofenetil Klorometil Keton P, 1743  
L-Triptofan P, 1744  
Luminal Natrium Untuk Injeksi, 442  
Luminal Natrium, 441  
Luminal, 439  
Lynestrenol, 779  
Lysine Acetate, 782

## M

Magenta Basa P, 1722  
Magenta Dekolorisasi LP, 1722  
Magenta LP, 1722  
Magnesia Campur LP, 1722  
Magnesium Carbonate, 803  
Magnesium Hidroksida, 802  
Magnesium Hydroxide, 802  
Magnesium Karbonat, 803  
Magnesium Klorida P, 1722  
Magnesium Nitrat P, 1722  
Magnesium Oksida P, 1722  
Magnesium Oksida, 804  
Magnesium Oxide, 804  
Magnesium Perklorat Anhidrat P, 1722  
Magnesium Stearat, 805  
Magnesium Stearate, 805  
Magnesium Sulfat LP, 1723  
Magnesium Sulfat P, 1723  
Magnesium Sulfat, 806  
Magnesium Sulfate Injection, 807  
Magnesium Sulfate, 806  
Magnesium Trisilikat, 808  
Magnesium Trisilikat, 808  
Maize Starch, 1003  
Makrogol 400, 1035  
Makrogol, 1033  
Malam Kuning, 809  
Malam Putih, 809  
Mangan Dioksida P, 1723  
Mangan Sulfat P, 1723  
Mangan Sulfat, 810  
Mangan(IV) Oksida P, 1723  
Manganese Sulfate, 810  
Manitol, 810  
Mannitol Injection, 811  
Mannitol, 810  
Maprotilin Hidroklorida, 812  
Maprotiline Hydrochloride, 812  
Mayer, Pereaksi, 1723  
Measles Immunoglobulin, 559  
Mebendazol, 813  
Mebendazole Oral Suspension, 813  
Mebendazole Tablet, 814  
Mebendazole, 813  
Medazepam, 816  
Medroksiprogesteron Asetat, 816  
Medroxyprogesterone Acetate Injectable Suspension, 818  
Medroxyprogesterone Acetate Tablet, 818  
Medroxyprogesterone Acetate, 816  
Mefenamic Acid Capsule, 157  
Mefenamic Acid Tablet, 158  
Mefenamic Acid, 156  
Meksiletin Hidroklorida, 820  
Melfalan, 821  
Meloksikam, 822  
Meloxicam Oral Suspension, 825  
Meloxicam Tablet, 827  
Meloxicam, 822  
Melphalan, 821  
Menadion Natrium Bisulfid, 830  
Menadion, 829  
Menadione Injection, 830  
Menadione Sodium Bisulphite, 830  
Menadione, 829  
Meningococcal Polysaccharide Vaccine, 1303  
Menthae Piperitae Folium, 831  
Menthol, 832  
Mentol, 832  
Meperidine Hydrochloride, 1011  
Mepiramin Maleat, 833  
Meprobamat, 834  
Meprobamate, 834  
Mepyramin Maleat, 833  
Merah Fenol LP, 1723  
Merah Fenol P, 1723, 1747  
Merah Kongo LP (A), 1723  
Merah Kongo LP, 1723  
Merah Kongo P, 1723, 1747  
Merah Kresol LP, 1723  
Merah Kresol P, 1723, 1747  
Merah Kuinaldin LP, 1723  
Merah Kuinaldin P, 1723, 1747  
Merah Metil LP, 1723  
Merah Metil P, 1723, 1747  
Merah Metil-Biru Metilen LP, 1723  
Merah Netral P, 1723, 1747  
Merah Ruthenium LP, 1723  
Merah Ruthenium P, 1723  
Mercaptopurine Tablet, 836  
Mercaptopurine, 835

- Merkaptopurin, 835  
Merkuri Bromida P, 1723  
Merkuri Iodida P, 1723  
Merkuri(II) Tiosianat P, 1723  
Meropenem for Injection, 839  
Meropenem untuk Injeksi, 839  
Meropenem, 837  
Mestranol, 841  
Metadon Hidroklorida, 842  
Metalftalein P, 1723, 1747  
Metampiron, 844  
Metanol Anhidrat P, 1724  
Metanol P, 1724  
Metaproterenol Sulfat, 844  
Metaproterenol Sulfate, 844  
Metenamin Mandelat, 846  
Metenamin P, 1724  
Metenamin, 846  
Metformin Hidroklorida, 848  
Metformin Hydrochloride Tablet, 849  
Metformin Hydrochloride, 848  
Methadone Hydrochloride Oral Solution, 842  
Methadone Hydrochloride Tablet, 843  
Methadone Hydrochloride, 842  
Methampyron Tablet, 844  
Methampyron, 844  
Methenamine Mandelate Tablet, 847  
Methenamine Mandelate, 846  
Methenamine, 846  
Methionine, 863  
Metotrexate, 870  
Methotrexate Injection, 871  
Methotrexate Tablet, 872  
Methoxalen, 867  
Methyl Paraben, 856  
Methyl Salicylate, 850  
Methylcellulose, 859  
Methyldopa Tablet, 852  
Methyldopa, 851  
Methylergometrin Maleate Injection, 854  
Methylergometrin Maleate Tablet, 855  
Methylergonovine Maleate, 853  
Methylprednisolone Acetate, 858  
Methylprednisolone Tablet, 859  
Methylprednisolone, 856  
Methyltestosterone, 861  
Methylthionine Chloride Injection, 863  
Methylthionine Chloride, 862  
Metil Alkohol P, 1724  
Metil Etil Keton P, 1724  
Metil Hijau-Raksa Iodida, Kertas P, 1724  
Metil Iodida P, 1724  
Metil Isobutil Keton P, 1724  
Metil Kloroform P, 1724  
Metil Salisilat, 850  
Metil Sianida P, 1724  
Metil Sulfoksida P, 1724  
2-Metil-2-Propil-1,3-Propandirol P, 1724  
4-Metil-2-Pentanon P, 1724  
3-Metilbutan-1-ol P, 1724  
Metildopa, 851  
Metilen Klorida P, 1724  
Metilergometrin Maleat, 853  
Metilergonovin Maleat, 853  
Metilparaben P, 1724  
Metilparaben, 856  
Metilprednisolon Asetat, 858  
Metilprednisolon, 856  
Metilselulosa, 859  
Metiltestosteron, 861  
Metiltionin Klorida, 862  
Metionin, 863  
Metoclopramide Hydrochloride Injection, 865  
Metoclopramide Hydrochloride Oral Solution, 866  
Metoclopramide Hydrochloride Tablet, 866  
Metoclopramide Hydrochloride, 864  
Metoklopramid Hidroklorida, 864  
Metoksalen, 867  
4-Metoksibenzaldehida P, 1724  
Metoksi Etanol P, 1724  
2-Metoksi Etanol P, 1724  
Metoprolol Tartrat, 868  
Metoprolol Tartrate Tablet, 869  
Metoprolol Tartrate, 868  
Metotreksat, 870  
Metronidazol, 872  
Metronidazole Injection, 873  
Metronidazole Tablet, 874  
Metronidazole, 872  
Mexiletine Hydrochloride, 820  
M-Fenilfenol P, 1709  
Miconazole Nitrate Cream, 876  
Miconazole Nitrate, 875  
Mikonazol Nitrat, 875  
Mikroskopi Optik, 1565  
Millon LP, 1724  
Mineral Oil, 880  
Minocyclin Hydrochloride, 877  
Minosiklin Hidroklorida, 877  
Minyak Adasmanis, 878  
Minyak Anis, 878  
Minyak Eukalipti, 878  
Minyak Ikan, 879  
Minyak Jarak, 879  
Minyak Kayu Putih, 878  
Minyak Mineral P, 1724  
Minyak Mineral Ringan P, 1724  
Minyak Mineral, 880  
Minyak Nabati Terhidrogenasi P, 1724  
Minyak Permen, 881  
Minyak Zaitun P, 1724  
Minyak Zaitun, 882  
Mitomisin untuk Injeksi, 883  
Mitomisin, 883  
Mitomycin For Injection, 883  
Mitomycin, 883  
Mometason Furoat, 884  
Mometasone Furoate Cream, 885  
Mometasone Furoate, 884  
Monoetanolamina P, 1724  
Monohydrate Lactose, 753  
Morbilla Vaccine, Live, 1298  
Morfin Anhidrat P, 1724  
Morfin Hidroklorida, 886  
Morfin Sulfat P, 1725  
Morfin Sulfat, 887  
Morfolin P, 1725  
Morphine Hydrochloride, 886  
Morphine Sulphate Injection, 888  
Morphine Sulphate, 887
- ## N
- 2,7-Naftalendiol P, 1725  
 $\beta$ -Naftokuinon 4-Natrium Sulfonat P, 1725  
N-(1-Naftil)Etilendiamin Dihidroklorida LP, 1725  
N-(1-Naftil)Etilendiamin Dihidroklorida P, 1725  
N-(Trimetilsilil)-Imidazol P, 1743  
N,N Dimetilaniлина P, 1703  
N,N Dimetiloktilamin P, 1704  
N,N,N',N'-Tetrametiletildiamin P, 1741  
N,N'-Metilenbisakrilamida P, 1724  
N,N-Dietilaniлина P, 1700  
N,N-Dimetilasetamida P, 1704  
N,N-Dimetiloktilamina P, 1704  
N-Asetil-L-Tirosin Etil Ester P, 1692  
Nadolol Tablet, 890  
Nadolol, 889  
Nafazolin Hidroklorida, 891  
Nafazolin Nitrat, 892  
Naftalen P, 1725  
1-Naftol P, 1725  
1-Naftol LP, 1725  
1-Naftol Encer LP, 1725  
2-Naftol P, 1725  
2-Naftol LP, 1725  
2-Naftol LP (A), 1725  
1-Naftolbenzein P, 1725  
1-Naftolbenzein LP, 1725  
P-Naftolbenzein P, 1726  
P-Naftolbenzein LP, 1726  
1,3-Naftalendiol P, 1725  
Naftol Dikalium Disulfonat P, 1725  
1-Naftolbenzein P, 1747  
P-Naftolbenzein P, 1747  
Naftoresorsinol P, 1726  
Nalidixic Acid Tablet, 160  
Nalidixic Acid, 159  
Nalokson Hidroklorida, 893  
Naloxone Hydrochloride, 893  
Nandrolon Dekanoat, 894  
Nandrolon Fenpropionat, 896  
Nandrolone Decanoate Injection, 895  
Nandrolone Decanoate, 894  
Nandrolone Phenpropionate Injection, 897  
Nandrolone Phenpropionate, 896  
Naphazoline Hydrochloride, 891  
Naphazoline Nitrate, 892  
Naproksen Natrium, 899  
Naproksen, 898  
Naproxen Sodium Tablet, 900  
Naproxen Sodium, 899  
Naproxen, 898

- N-Asetil-L-Tirosin Etil Ester P, 1692  
Natrium Dietiliditiokarbamat P, 1727  
Natrium 1-Heksansulfonat P, 1728  
Natrium 1-Heptansulfonat P, 1728  
Natrium 1-Oktanansulfonat P, 1729  
Natrium 1-Pentansulfonat P, 1729  
Natrium 2,6-Diklorofenol-Indofenol P, 1727  
Natrium Amilum Glikolat P, 1726  
Natrium Aminosalisilat, 903  
Natrium Amonium Fosfat P, 1726  
Natrium Asetat Anhidrat P, 1726  
Natrium Asetat LP, 1726  
Natrium Asetat P, 1726  
Natrium Askorbat, 905  
Natrium Azida P, 1726  
Natrium Benzoat, 905  
Natrium Bifenil P, 1726  
Natrium Bikarbonat P, 1727  
Natrium Bikarbonat, 906  
Natrium Bisulfit P, 1727  
Natrium Bitartrat LP, 1727  
Natrium Bitartrat P, 1727  
Natrium Borat P, 1727  
Natrium Bromida P, 1727  
Natrium Desoksikolat P, 1727  
Natrium Dihidrogen Fosfat P, 1727  
Natrium Ditionit P, 1727  
Natrium Dodesil Sulfat P, 1727  
Natrium Fluorida P, 1727  
Natrium Fluorida, 910  
Natrium Fosfat Dibasa Anhidrat P, 1727  
Natrium Fosfat Dibasa Dodekahidrat P, 1727  
Natrium Fosfat Dibasa LP, 1727  
Natrium Fosfat Dibasa P, 1727  
Natrium Fosfat Monobasa Dihidrat P, 1727  
Natrium Fosfat Monobasa P, 1727  
Natrium Glikokolat P, 1727  
Natrium Hidroksida I N LV, 1757  
Natrium Hidroksida Etanol 0,1 N LV, 1757  
Natrium Hidroksida LP, 1728  
Natrium Hidroksida P, 1728  
Natrium Hidroksida, 911  
Natrium Hidrosulfit P, 1728  
Natrium Hipobromit LP, 1728  
Natrium Hipoklorit 3,5% LP, 1729  
Natrium Hipoklorit P, Larutan, 1728  
Natrium Indigotindisulfonat LP, 1729  
Natrium Indigotindisulfonat P, 1729  
Natrium Iodida P, 1729  
Natrium Karbonat Anhidrat P, 1729  
Natrium Karbonat Dekahidrat P, 1729  
Natrium Karbonat LP, 1729  
Natrium Karbonat Monohidrat P, 1729  
Natrium Karbonat P, 1729  
Natrium Klorida P, 1729  
Natrium Klorida, 917  
Natrium Kobaltinitrit LP, 1729  
Natrium Kobaltinitrit P, 1729  
Natrium Kromotropat P, 1729  
Natrium Lauril Sulfat P, 1729-  
Natrium Lauril Sulfat, 920  
Natrium Merah Metil P, 1729  
Natrium Metabisulfit P, 1729  
Natrium Metabisulfit, 921  
Natrium Metoksida Toluen 0,1 N LV, 1757  
Natrium Molibdat P, 1729  
Natrium Nitrat P, 1729  
Natrium Nitrit 0,1 M LV, 1757  
Natrium Nitrit LP, 1729  
Natrium Nitrit P, 1729  
Natrium Nitroferisianida LP, 1729  
Natrium Nitroferisianida P, 1729  
Natrium Nitroprusida LP, 1729  
Natrium Nitroprusida P, 1729  
Natrium Nitroprusida untuk Injeksi, 923  
Natrium Nitroprusida, 922  
Natrium Oksalat P, 1729  
Natrium Oktal Sulfat P, 1729  
Natrium P, 1726  
Natrium Perklorat LP, 1729  
Natrium Perklorat P, 1729  
Natrium Pirofosfat P, 1729  
Natrium Piruvat P, 1730  
Natrium Salisilat P, 1730  
Natrium Salisilat, 926  
Natrium Selenit P, 1730  
Natrium Sianida P, 1730  
Natrium Sitrat Dihidrat P, 1730  
Natrium Sitrat P, 1730  
Natrium Sitrat, 926  
Natrium Subkarbonat, 1730  
Natrium Subkarbonat, 906  
Natrium Sulfat Anhidrat P, 1730  
Natrium Sulfat Dekahidrat P, 1731  
Natrium Sulfat P, 1730  
Natrium Sulfida LP, 1731  
Natrium Sulfida P, 1731  
Natrium Sulfit Anhidrat P, 1731  
Natrium Sulfit P, 1731  
Natrium Tetraborat P, 1731  
Natrium Tetraborat, 927  
Natrium Tetrafenilborat P, 1731  
Natrium Tetrafenilboron 0,02 M LV, 1758  
Natrium Tioglikolat P, 1731  
Natrium Tiogliserat P, 1731  
Natrium Tiosulfat 0,1 N LV, 1758  
Natrium Tiosulfat P, 1731  
Natrium Tiosulfat, 927  
Natrium Tungstat P, 1731  
N-Butil Klorida P, 1698  
N-Butilamin P, 1697  
N-Dibutil Eter P, 1700  
N-Dotriakontana P, 1705  
Neomisin Sulfat, 928  
Neomisin Untuk Injeksi, 929  
Neomycin For Injection, 929  
Neomycin Sulfate, 928  
Neostigmin Bromida, 929  
Neostigmin Metilsulfat, 931  
Neostigmine Bromide Tablet, 930  
Neostigmine Bromide, 929  
Neostigmine Methylsulfate Injections, 931  
Neostigmine Methylsulfate, 931  
Nessler, Pereaksi, 1731  
Neutral Insulin Injection, 571  
Nevirapin, 932  
Nevirapine Oral Suspension, 933  
Nevirapine Tablet, 936  
Nevirapine, 932  
N-Heksana P, 1712  
N-Heptan P, 1712  
N-Heptan Untuk Kromatografi P, 1712  
Niacinamide, 946  
Niasin P, 1731  
Niasinamide, 946  
Nicotiny Alcohol Tartrate, 947  
Nifedipin, 938  
Nifedipine Capsule, 939  
Nifedipine Extended-Release Tablet, 941  
Nifedipine, 938  
Nikel(II) Sulfat Heptahidrat P, 1731  
Niketamida, 945  
Niketamide, 945  
Nikotinamida, 946  
Nikotinil Alkohol Tartrat, 947  
Nimodipin, 948  
Nimodipine, 948  
Ninhidrin LP, 1731  
Ninhidrin P, 1731  
Nipasol, 1072  
Nistatin, 949  
Nitrate Acid, 160  
Nitrazepam Tablet, 953  
Nitrazepam, 952  
Nitrobenzen P, 1731  
4-(P-Nitrobenzil)Piridin P, 1732  
5-Nitro-1,10-Fenantrolin P, 1732  
Nitrofenantrolin LP, 1732  
4-Nitrofenil Dinatrium Ortofosfat P, 1732  
Nitrofenil Fosfat LP, 1732  
Nitrofurantoin Capsule, 955  
Nitrofurantoin, 954  
Nitrogen Bebas Oksigen P, 1732  
Nitrogen P, 1732  
Nitrogliserin Encer, 958  
Nitrogliserin Injection, 960  
Nitrogliserin Tablet, 960  
Nitrometan P, 1732  
Nitroso R, Garam P, 1732  
N-Oktanol P, 1732  
N-Oktal Alkohol P, 1732  
Non Absorbable Surgical Suture, 216  
Nonan-5-on P, 1732  
Norethindrone Tablet, 962  
Norethindrone, 961  
Noretindron, 961  
Noretisteron, 961  
Norgestrel, 963  
Normal Immunoglobulin, 560  
Nortriptilin Hidroklorida, 964  
Nortriptiline Hydrochloride, 964  
Noscapine, 965  
Noskapin, 965  
N-Propil Alkohol P, 1736  
N-Trikosan P, 1743  
Nystatin Cream, 950  
Nystatin Lotion, 950

Nystatin Ointment, 950  
Nystatin Oral Suspension, 951  
Nystatin Tablet, 951  
Nystatin Vaginal Inserts, 952  
Nystatin, 949

## O

O-Dianisidina Dihidroklorida P, 1699  
O-Diklorobenzen P, 1702  
Ofloksasin, 966  
Ofloxacin Tablet, 967  
Ofloxacin, 966  
O-Ftalaldehida P, 1710  
Ointment, 56  
O-Kresol P, 1720  
Oksifenbutazon, 969  
Oksigen 93%, 971  
Oksigen P, 1732  
Oksigen, 970  
Oksimetazolin Hidroklorida, 971  
Oksitetrasiklin Hidroklorida, 974  
Oksitetrasiklin untuk Injeksi, 975  
Oksitetrasiklin, 973  
Oksitosin, 975  
Oksiprenolol Hidroklorida, 977  
Oktadesil Silan P, 1732  
1-Oktanol P, 1732  
Oktosinol 9 P, 1732  
Olive Oil, 882  
Omeprazol, 978  
Omeprazole Delayed-Release Capsule, 980  
Omeprazole, 978  
Ondansetron Hidroklorida, 983  
Ondansetron Hydrochloride, 983  
Ondansetron Injection, 985  
Ondansetron Tablet, 987  
O-Nitroanilin P, 1731  
Ophthalmic Preparation, 53  
Opium Mentah, 988  
Opium, 988  
Oral Rehydration Salts, 484  
Ortofenantrolin LP, 1732  
Ortofenantrolin P, 1732  
Osmium Tetroksida P, 1733  
Osmolalitas dan Osmolaritas, 1544  
O-Tolidin P, 1742  
O-Toluidina P, 1743  
O-Xilena P, 1745  
Oxprenolol Hydrochloride, 977  
Oxygen 93%, 971  
Oxygen, 970  
Oxymetazoline Hydrochloride Nasal Solution, 972  
Oxymetazoline Hydrochloride, 971  
Oxymetazoline Hydrochloride, 972  
Oxyphenbutazone, 969  
Oxytetracycline for Injections, 975  
Oxytetracycline Hydrochloride, 974  
Oxytetracycline, 973  
Oxytocin Injection, 977  
Oxytocin, 975

## P

Paladium(II) Klorida P, 1733  
Paladium, Katalis P, 1733  
P-Aminofenol P, 1683  
Pancreatin, 990  
Pancuronium Bromide Injection, 994  
Pancuronium Bromide, 992  
Panjang Serat, 1547  
Pankreatin, 990  
Pankuronium Bromida, 992  
Papaverin Hidroklorida, 994  
Papaverine Hydrochloride Injection, 995  
Papaverine Hydrochloride Tablet, 996  
Papaverine Hydrochloride, 994  
Paraffin, 996  
Parafin Cair P, 1733  
Parafin P, 1733  
Parafin, 996  
Paraformaldehida P, 1733  
Paraformaldehida, 997  
Paraformaldehida, 997  
Parasetamol, 998  
Paromomisin Sulfat, 1001  
Paromomycin Sulfate, 1001  
Pasta, 52  
Paste, 52  
Pati Beras, 1002  
Pati Gandum, 1002  
Pati Jagung, 1003  
Pati Kentang, 1003  
Pati Larut P, 1733  
Pati Singkong, 1003  
P-Bromoanilin LP, 1697  
P-Bromoanilin P, 1697  
P-Dimetilaminobenzaldehida LP, 1703  
P-Dimetilaminobenzaldehida P, 1703  
P-Dimetilaminosinamalaldehida P, 1703  
Pectine, 1003  
PEG, 1033  
Pektin, 1003  
Pelarut Impregnasi, 1733  
Pelepasan Obat, 1548  
Pembakaran dengan Labu Oksigen, 1461  
Pembalut Krep Katun, 1004  
Pembalut Perkat Elastis, 1005  
Pencucian Peralatan Kaca, 1638  
Penetapan Aktivitas Vitamin B12, 1384  
Penetapan Batas Flokulasi Vaksin dan Toksin Difteri, 1553  
Penetapan Bobot Jenis, 1553  
Penetapan Bobot Per Mililiter, 1554  
Penetapan Golongan Darah ABO Donor, 1386  
Penetapan Golongan Rh Donor, 1388  
Penetapan Indeks Bias, 1554  
Penetapan Jarak Destilasi, 1554  
Penetapan Jarak Lebur atau Suhu Lebur, 1555  
Penetapan Kadar Air, 1557  
Penetapan Kadar Antibiotik Secara Iodometri, 1463  
Penetapan Kadar Barbiturat, 1464  
Penetapan Kadar Etanol, 1560  
Penetapan Kadar Garam Basa Nitrogen Organik, 1464  
Penetapan Kadar Gula Darah, 1465  
Penetapan Kadar Kalsiferol, 1466  
Penetapan Kadar Kalsium Pantotenat, 1390  
Penetapan Kadar Kobalamin Secara Perunut Radioaktif, 1472  
Penetapan Kadar Nitrogen Dalam Produk Darah, 1474  
Penetapan Kadar Nitrogen, 1473  
Penetapan Kadar Riboflavin, 1475  
Penetapan Kadar Sineol, 1476  
Penetapan Kadar Steroid Tunggal, 1477  
Penetapan Kadar Steroid, 1476  
Penetapan Kadar Tiamin, 1477  
Penetapan Kadar Vit A, 1461  
Penetapan Kadar Zink, 1475  
Penetapan Kekentalan, 1562  
Penetapan Partikel Logam Dalam Salep Mata, 1563  
Penetapan Penisilin G, 1478  
Penetapan pH, 1563  
Penetapan Potensi Antibiotik Secara Mikrobiologi, 1392  
Penetapan Potensi Fraksi Faktor IX, 1401  
Penetapan Potensi Fraksi Faktor VIII, 1399  
Penetapan Potensi Insulin, 1402  
Penetapan Potensi Streptokinase, 1404  
Penetapan Rotasi Optik, 1567  
Penetapan Sifat Hablur, 1568  
Penetapan Sisa Pemijaran, 1426  
Penetapan Suhu Beku, 1568  
Penetapan Susut Pemijaran, 1569  
Penetapan Susut Pengeringan, 1569  
Penetapan Volume Injeksi Dalam Wadah, 1570  
Pengambilan Contoh dan Metode Analisis Simplicia, 1478  
Pengayak dan Derajat Halus Serbuk, 1570  
Pengukuran Warna dengan Instrumen, 1639  
Penicillin V Tablet, 1006  
Penicillin V, 1006  
Penimbangan pada Timbangan Analitik, 1641  
Penisilin V, 1006  
Pentana P, 1733  
2,4-Pentanadion P, 1733  
Penetapan Bobot Jenis, 1553  
Pentoksifilin, 1007  
Pentoxifylline, 1007  
Penyangga Kromatografi Gas, 1733  
Peppermint Oil, 881  
Pepsin P, 1733  
Pepton Daging P, 1733  
Pepton Kering P, 1733  
Perak Ammonium Nitrat LP, 1733  
Perak Dietilditiokarbamat LP, 1733  
Perak Dietilditiokarbamat P, 1733  
Perak Nitrat 0,1 N LV, 1758



- Perak Nitrat Amoniakal LP, 1734  
Perak Nitrat P, 1733  
Perak Nitrat, 1008  
Perak Oksida P, 1734  
Peralatan Volumetrik, 1340  
Perangkat Infus Dan Transfusi, 1405  
Pereaksi Deniges, 1734  
Pereaksi Mayer, 1734  
Pereaksi Nessler, 1734  
Pereaksi, Indikator dan Larutan, 1677  
Perfenazin, 1009  
Permeabilitas Uap Air, 1571  
Permeable Non-Woven Surgical  
  Synthetic Adhesive Tape, 1032  
Perphenazine Tablet, 1010  
Perphenazine, 1009  
Pertimbangan Tentang Stabilitas  
  Dalam Pemberian Obat, 1644  
Pethidine Hydrochloride Injection,  
  1012  
Pethidine Hydrochloride, 1011  
Petidin Hidroklorida, 1011  
Petroleum Eter P, 1734  
Phenazopyridin Hydrochloride, 423  
Phenfluramine Hydrochloride Tablet,  
  425  
Phenfluramine Hydrochloride, 424  
Phenylmercury(II) Acetate, 429  
Phenylmercury(II) Nitrate, 430  
Pheniramine Maleate, 432  
Phenobarbital Sodium for Injection,  
  442  
Phenobarbital Sodium Injection, 442  
Phenobarbital Sodium, 441  
Phenobarbital Tablet, 440  
Phenobarbital, 439  
Phenol Liquid, 445  
Phenol, 444  
Phenolphthaleine, 445  
Phenoterole Hidrobromide, 446  
Phenoxymethyl Penicillin, 1006  
Phentanyle Citrate Injections, 448  
Phentanyle Citrate, 447  
Phenylbutazone Tablet, 427  
Phenylbutazone, 426  
Phenylephrine Hydrochloride, 428  
Phenylpropanolamine Hydrochloride,  
  431  
Phenytoin Oral Suspension, 434  
Phenytoin Sodium Capsule, 438  
Phenytoin Sodium Injection, 437  
Phenytoin Sodium, 435  
Phenytoin, 433  
Phosphate Acid, 155  
Phytomenadione Injections, 451  
Phytomenadione Tablet, 451  
Phytomenadione, 450  
Pilocarpine Hydrochloride Eyes Drops,  
  1013  
Pilocarpine Hydrochloride, 1012  
Pilocarpine Nitrate Eyes Drops, 1014  
Pilocarpine Nitrate, 1013  
Pilocarpin Hidroklorida, 1012  
Pilocarpin Nitrat, 1013  
Pindolol, 1014  
Piperazin Adipat, 1016  
Piperazin Fosfat, 1017  
Piperazin Sitrat, 1018  
Piperazin, 1016  
Piperazine Adipate, 1016  
Piperazine Citrate Syrup, 1019  
Piperazine Citrate Tablet, 1020  
Piperazine Citrate, 1018  
Piperazine Phosphate Tablet, 1018  
Piperazine Phosphate, 1017  
Piperazine, 1016  
Piracetam, 1023  
Pirantel Pamoat, 1020  
Pirasetam, 1023  
Pirazinamid, 1024  
Pirazinamide Tablet, 1024  
Piridilazonaftol, Pan P, 1734  
1-(2-Piridilazo)-2-Naftol P, 1734  
Piridin Anhidrat P, 1734  
Piridin P, 1734  
Piridoksal Hidroklorida P, 1734  
Piridoksamin Dihidroklorida P, 1735  
Piridoksin Hidroklorida P, 1735  
Piridoksin Hidroklorida, 1025  
Piridostigmin Bromida, 1027  
Pirilamin Maleat, 833  
Pirimetamin, 1028  
Pirogalol Basa LP, 1735  
Pirogalol P, 1735  
Piroksikam, 1029  
Pirrol P, 1735  
Piroxicam Capsule, 1030  
Piroxicam Tablet, 1031  
Piroxicam, 1029  
P-Kloroanilin P, 1720  
P-Kloroasetanilida P, 1720  
P-Klorofenol P, 1720  
Plasma Protein Fraction, 475  
Plasma Reduced Blood, 273  
Plasma Sedikit Platelet P, 1735  
Plasma Segar Beku Untuk Infus, 1031  
Plasma Segar Beku, 1031  
Plaster of Paris Bandage, 495  
Platina(IV) Klorida LP, 1735  
Platina(IV) Klorida P, 1735  
Platinum Kobalt LP, 1735  
Plester Bedah Zink Oksida, 1032  
Plester Sintetik Permeabel Tidak  
  Ditenun, 1032  
Plester, 52  
Plester, 52  
P-Metilamino fenol Sulfat P, 1724  
P-Naftolbenzein LP, 1726  
P-Naftolbenzein P, 1726  
P-Naftolbenzein P, 1747  
P-Natrium Periodat P, 1729  
P-Nitroanilin Diazotasi LP, 1731  
P-Nitroanilin P, 1731  
P-Nitrobenzendiazonium  
  Tetrafluoroborat P, 1731  
Podophylli Root, 1103  
Polarografi, 1572  
Polietilen Glikol 1000 P, 1735  
Polietilen Glikol 200 P, 1735  
Polietilen Glikol 400 P, 1735  
Polietilen Glikol 400, 1035  
Polietilen Glikol 600 P, 1735  
Polietilen Glikol 6000 P, 1735  
Polietilen Glikol, 1033  
Polimiksin B Sulfat, 1036  
Polimiksin B untuk Injeksi, 1037  
Poliomyelitis Vaccine, Live (Oral),  
  1302  
Polisorbat 20 P, 1735  
Polisorbat 20, 1038  
Polisorbat 60, 1038  
Polisorbat 80 P, 1735  
Polisorbat 80, 1038  
Polivinil Alkohol P, 1735  
Polyethylene Glycol 400, 1035  
Polyethylene Glycol, 1033  
Polymyxin B for Injection, 1037  
Polymyxine B Sulphate, 1036  
Polysorbate 20, 1038  
Polysorbate 60, 1038  
Polysorbate 80, 1038  
Potassium Chloride, 594  
Potassium Guaiacolsulfonate, 595  
Potassium Iodide, 593  
Potassium Permanganate, 595  
Potato Starch, 1003  
Powdered Opium, 989  
Powder, 54  
Povidon Iodum, 1039  
Povidon Iodum, 1039  
Povidone Iodine Topical Solution,  
  1040  
Povidone Iodine, 1039  
Praktek Laboratorium Mikrobiologi  
  yang Baik, 1649  
Pravastatin Natrium, 1040  
Pravastatin Sodium Tablet, 1042  
Pravastatin Sodium, 1040  
Prazikuantel, 1044  
Praziquantel Tablet, 1045  
Praziquantel, 1044  
Prazosin Hidroklorida, 1046  
Prazosin Hydrochloride Tablet, 1047  
Prazosin Hydrochloride, 1046  
Prednisolon Acetate Ophthalmic  
  Suspension, 1051  
Prednisolon Asetat, 1050  
Prednisolon, 1048  
Prednisolone Acetate, 1050  
Prednisolone Cream, 1049  
Prednisolone Tablet, 1049  
Prednisolone, 1048  
Prednison, 1052  
Prednisone Tablet, 1053  
Prednisone, 1052  
Primakuin Fosfat, 1054  
Primaquine Phosphate Tablet, 1054  
Primaquine Phosphate, 1054  
Probenecid Tablet, 1056  
Probenecid, 1055  
Probenesid, 1055  
Procainamide Hydrochloride, 1061  
Procaine Hydrochloride Injection,  
  1059  
Procaine Hydrochloride, 1058  
Procaini Penicillinum G Sterile, 1059  
Progesteron, 1057  
Progesterone, 1057

Prokain Hidroklorida, 1058  
Prokain Penisilin G Steril, 1059  
Prokainamida Hidroklorida P, 1736  
Prokainamida Hidroklorida, 1061  
Prometazin Hidroklorida, 1062  
Prometazin Teoklat, 1066  
Promethazine Hydrochloride Injection, 1063  
Promethazine Hydrochloride Syrup, 1064  
Promethazine Hydrochloride Tablet, 1064  
Promethazine Hydrochloride, 1062  
Promethazine Teoklat, 1066  
Propana-1,2-Diol P, 1736  
2-Propanil P, 1736  
Propantelin Bromida, 1069  
Propanteline Bromide, 1069  
Propilen Glikol P, 1736  
Propilen Glikol, 1070  
Propiliodon, 1071  
Propilparaben P, 1736  
Propilparaben, 1072  
Propiltiourasil, 1073  
Propofol, 1074  
Propranolol Hidroklorida, 1067  
Propranolol Hydrochloride Injection, 1068  
Propranolol Hydrochloride Tablet, 1068  
Propranolol Hydrochloride, 1067  
Propylene Glycol, 1070  
Propylidone, 1071  
Propylparaben, 1072  
Propylthiouracil Tablet, 1073  
Propylthiouracil, 1073  
Prosedur Disolusi : Pengembangan dan Validasi, 1654  
Protamin Sulfat, 1077  
Protamine Sulfate Injection, 1078  
Protamine Sulfate, 1077  
Pseudoefedrin Hidroklorida, -1078  
Pseudoephedrine Hydrochloride, 1078  
P-Tolualdehida P, 1743  
P-Toluenasulfonil-L-Arginina Metil Ester Hidroklorida P, 1743  
Pulvis Agar, 63  
Purified Water, 63  
Pyrantel Pamoate Oral Suspension, 1022  
Pyrantel Pamoate, 1020  
Pyrazinamide, 1024  
Pyridostigmine Bromide, 1027  
Pyridoxine Hydrochloride Tablet, 1026  
Pyridoxine Hydrochloride, 1025  
Pyrimethamine, 1028  
Pyrazinamide Table, 1024

## Q

Quinidine Sulphate Tablet, 744  
Quinidine Sulphate, 743  
Quinine Ethylcarbonate, 745

Quinine Hydrochloride, 747  
Quinine Sulphate Tablet, 749  
Quinine Sulfate, 748

## R

Rabies Immunoglobulin, 561  
Rabies Vaccine, 1304  
Radioaktivitas, 1575  
Raksa P, 1736  
Raksa(I) Nitrat LP, 1736  
Raksa(I) Nitrat P, 1736  
Raksa(II) Asetat LP, 1736  
Raksa(II) Asetat P, 1736  
Raksa(II) Bromida-Etanol LP, 1736  
Raksa(II) Iodida LP, 1736  
Raksa(II) Iodida Merah P, 1736  
Raksa(II) Iodida P, 1736  
Raksa(II) Kalium Iodida Alkalis LP, 1736  
Raksa(II) Kalium Iodida LP, 1736  
Raksa(II) Klorida LP, 1736  
Raksa(II) Klorida P, 1736  
Raksa(II) Nitrat 0,02 M LV, 1758  
Raksa(II) Nitrat LP, 1736  
Raksa(II) Nitrat P, 1736  
Raksa(II) Oksida Kuning P, 1736  
Raksa(II) Oksida P, 1736  
Raksa(II) Sulfat P, 1736  
Raksa(II) Sulfat LP, 1736  
Raksa(II) Tiosianat P, 1736  
Raksa(II)-Imidazol LP, 1736  
Ramipril, 1079  
Ranitidin Hidroklorida, 1081  
Ranitidine Hydrochloride Tablet, 1082  
Ranitidine Hydrochloride, 1081  
Ranitidine Injection, 1084  
Rauwolfiae Radix, 66  
Repaglinide Tablet, 1085  
Reserpin, 1086  
Reserpine Tablet, 1087  
Reserpine, 1086  
Resin Guiakum P, 1737  
Resin Kolestiramin untuk Suspensi Oral, 732  
Resin Penukar Ion P, 1737  
Resorcinol, 1089  
Resorsinol LP (A), 1737  
Resorsinol LP, 1737  
Resorsinol P, 1737  
Resorsinol, 1089  
Retinoic Acid Cream, 163  
Retinoic Acid Gel, 162  
Retinoic Acid, 161  
Retinol, 71  
Rhodamin B P, 1737  
Ribavirin, 1090  
Riboflavin Natrium Fosfat, 1092  
Riboflavin P, 1737  
Riboflavin Phosphate Sodium, 1092  
Riboflavin, 1091  
Rice Starch, 1002  
Rifampisin untuk Injeksi, 1097  
Rifampisin, 1094

Rifamycin and Isoniazid Capsule, 1098  
Rifamycin Capsule, 1095  
Rifamycin for Injection, 1097  
Rifamycin Oral Suspension, 1096  
Rifamycin, 1094  
Rifamycin, Isoniazid and Pyrazinamide Tablet, 1100  
Rifamycin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol Hydrochloride Tablet, 1102  
Rimpang Podofili, 1103  
Ringer Injection, 1104  
Ringer Lactate Injection, 1105  
Risedronat Natrium, 1106  
Risedronate Sodium Tablet, 1109  
Risedronate Sodium, 1106  
Risperidon, 1111  
Risperidone Tablet, 1112  
Risperidone, 1111  
Ritonavir, 1114  
Rivanol, 397  
Rose Bengal Sodium <sup>131</sup>I Injection, 1116  
Rumus dan Bobot Molekul, 1769

## S

S1a; S1ab; S1c, S1ns; S2; S3; S4; S5; S6; S7; S8; S9; S10; S11 P, 1737  
Saccharin Sodium, 1119  
Saccharin, 1117  
Saccharose, 1120  
Sakarín Natrium, 1119  
Sakarín, 1117  
Sakarosa P, 1737  
Sakarosa, 1120  
Salbutamol Sulfat, 1122  
Salbutamol Tablet, 1121  
Salbutamol, 1120  
Salep Amfoterisin B, 105  
Salep Asam Benzoat dan Salisilat, 152  
Salep Asiklovir, 181  
Salep Betametason Dipropionat, 237  
Salep Betametason Valerat, 242  
Salep Eritromisin, 385  
Salep Gentamisin Sulfat, 493  
Salep Hidrokortison, 534  
Salep Mata Gentamisin Sulfat, 493  
Salep Mata Idoksuridin, 556  
Salep Mata Kloramfenikol, 687  
Salep Mata Tetrasiklin Hidroklorida, 1261  
Salep Mata Tobramisin, 1277  
Salep Nistatin, 950  
Salep, 56  
Salicylamide, 1123  
Salicylic Acid, 163  
Salin LP, 1737  
Salin pH 7,4 Didapar Fosfat, 1737  
Salisilamida, 1123  
Schweitzer, Pereaksi, 1737  
Scopolamin Hydrobromide Tablet, 1209

- Scopolamine Hydrobromide Injection, 1208
- Scopolamine Hydrobromide, 1207
- Sediaan Obat Mata, 53
- Sefadoksil untuk Suspensi Oral, 1127
- Sefadoksil, 1124
- Sefaklor untuk Suspensi Oral, 1130
- Sefaklor, 1127
- Sefaleksin Hidroklorida, 1135
- Sefaleksin untuk Suspensi Oral, 1134
- Sefaleksin, 1131
- Sefamandol Nafat untuk Injeksi, 1137
- Sefamandol Nafat, 1136
- Sefazolin Natrium Steril, 1140
- Sefazolin Natrium, 1139
- Sefazolin, 1138
- Sefepim Hidroklorida, 1141
- Sefepim untuk Injeksi, 1143
- Sefiksiksim untuk Suspensi Oral, 1147
- Sefiksiksim, 1145
- Sefoperazon Natrium, 1147
- Sefotaksim Natrium, 1148
- Sefotaksim untuk Injeksi, 1150
- Sefotiam Hidroklorida, 1152
- Sefotiam untuk Injeksi, 1153
- Sefradin untuk Injeksi, 1156
- Sefradin untuk Suspensi Oral, 1157
- Sefradin, 1154
- Seftazidim untuk Injeksi, 1159
- Seftazidim, 1158
- Seftizoksiksim Natrium, 1162
- Seftizoksiksim untuk Injeksi, 1163
- Seftriakson Natrium, 1164
- Seftriakson untuk Injeksi, 1166
- Sefuroksim Aksetil, 1167
- Sefuroksim Natrium, 1169
- Sefuroksim untuk Injeksi, 1170
- Sel Darah Merah Pekat, 1171
- Selenium P, 1737
- Selenium Sulfida, 1171
- Selenium Sulfide, 1171
- Selulosa P, 1737
- Serbuk Agar, 63
- Serbuk Daun Digitalis, 318
- Serbuk Gom Akasia, 511
- Serbuk Gom Arab, 511
- Serbuk Opium, 989
- Serbuk, 54
- Serium(III) Nitrat LP, 1737
- Serium(III) Nitrat P, 1737
- Serium(IV) Amonium Nitrat 0,05 N LV, 1759
- Serium(IV) Amonium Nitrat LP, 1737
- Serium(IV) Amonium Nitrat P, 1737
- Serium(IV) Amonium Sulfat P, 1737
- Serium(IV) Sulfat 0,1 N LV, 1759
- Serium(IV) Sulfat P, 1737
- Setil Alkohol, 1172
- Setilpiridinium Klorida 0,005 M LV, 1759
- Setilpiridinium Klorida P, 1738
- Setilpiridinium Klorida, 1173
- Setiltrimetilamonium Bromida P, 1738
- Setrimida P, 1738
- Setrimida, 1174
- Sianogen Bromida LP, 1738
- Sianogen Bromida P, 1738
- Sianokobalamin, 1174
- Siklofosfamida untuk Injeksi, 1182
- Siklofosfamida, 1178
- Sikloheksan P, 1738
- Sikloserin, 1182
- Siklosporin, 1184
- Silika Gel Oktadesilsilanisasi Untuk Kromatografi P, 1738
- Silika Gel P, 1738
- Silikon Karbida P, 1738
- Silostazol, 1189
- Silver Nitrate, 1008
- Simethicone, 1193
- Simetidin, 1191
- Simetikon, 1193
- Simvastatine Tablet, 1195
- Simvastatin, 1194
- Simvastatine, 1194
- Sineol P, 1738
- Siprofloksasin Hidroklorida, 1196
- Siproheptadin Hidroklorida, 1199
- Sirup Asam Valproat, 169
- Sirup Dekstrometorfan Hidrobromida, 295
- Sirup Difenhidramin Hidroklorida, 316
- Sirup Klorpromazin Hidroklorida, 713
- Sirup Piperazin Sitrat, 1019
- Sirup Prometazin Hidroklorida, 1064
- Sisplatin untuk Injeksi, 1203
- Sisplatin, 1200
- Sistein Hidroklorida, 1204
- Sitarabin untuk Injeksi, 1207
- Sitarabin, 1205
- Skopolamin Hidrobromida, 1207
- Sodium Aminosalisilat, 903
- Sodium Ascorbate, 905
- Sodium Benzoate, 905
- Sodium Bicarbonate Injection, 909
- Sodium Bicarbonate Tablet, 909
- Sodium Bicarbonate, 906
- Sodium Chloride Composition Injection, 918
- Sodium Chloride Injection, 918
- Sodium Chloride, 917
- Sodium Chromate <sup>51</sup>Cr Injection, 919
- Sodium Citrate, 926
- Sodium Fluoride, 910
- Sodium Hydroxide, 911
- Sodium Iodide <sup>123</sup>I Capsule, 912
- Sodium Iodide <sup>123</sup>I Solution, 913
- Sodium Iodide <sup>131</sup>I Capsule, 913
- Sodium Iodide <sup>131</sup>I Solution, 914
- Sodium Lauryl Sulfate, 920
- Sodium Metabisulfite, 921
- Sodium Nitroprusside for Injection, 923
- Sodium Nitroprusside, 922
- Sodium Pertechnetate <sup>99m</sup>Tc Injection, 924
- Sodium Phosphate <sup>32</sup>P Injections, 911
- Sodium Salicylate, 926
- Sodium Tetraborate, 927
- Sodium Thiosulfate Injections, 928
- Sodium Thiosulfate, 927
- Solution, 51
- Sorbic Acid, 165
- Sorbitol P, 1739
- Sorbitol, 1210
- Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya, 1585
- Spektrometri Massa, 1592
- Spiramisin, 1211
- Spiramycin, 1211
- Spiroonolactone Tablet, 1213
- Spiroonolactone, 1212
- Spiroonolacton, 1212
- Spon Gelatin, 1214
- Stanozolol, 1215
- Stavudin Untuk Larutan Oral, 1219
- Stavudin, 1216
- Stavudine Capsule, 1218
- Stavudine for Oral Solution, 1219
- Stavudine, 1216
- Sterile Water for Injections, 64
- Sterilisasi dan Jaminan Sterilitas Pada Suatu Sediaan, 1661
- Streptokinase, 1220
- Streptomisin Sulfat untuk Injeksi, 1223
- Streptomisin Sulfat, 1221
- Streptomycin Injection, 1223
- Streptomycin Sulfate for Injection, 1223
- Streptomycin Sulfate, 1221
- Striknin Nitrat, 1224
- Striknin Sulfat P, 1739
- Stronsium Nitrat P, 1739
- Strychnine Nitrate, 1224
- Sufentanil Citrate Injection, 1226
- Sufentanil Citrate, 1225
- Sufentanil Sitrat, 1225
- Sukrosa P, 1739
- Sulbactam Sodium, 1227
- Sulbaktam Natrium, 1227
- Sulfacetamida Sodium Ophthalmic Solution, 1241
- Sulfacetamide Sodium, 1240
- Sulfacetamide, 1239
- Sulfadiazin P, 1739
- Sulfadiazin, 1228
- Sulfadiazine, 1228
- Sulfadimidin, 1229
- Sulfadimidine, 1229
- Sulfadoksin, 1230
- Sulfadoxine and Pyrimethamine Tablet, 1231
- Sulfadoxine, 1230
- Sulfamerazin, 1232
- Sulfamerazine, 1232
- Sulfametazin, 1229
- Sulfamethizole, 1233
- Sulfamethoxazole and Trimethoprim Injection, 1235
- Sulfamethoxazole and Trimethoprim Oral Suspension, 1236
- Sulfametizol, 1233
- Sulfametoksazol, 1234
- Sulfametoksazole and Trimethoprim Tablet, 1238
- Sulfametoksazole, 1234
- Sulfanilamida P, 1739
- Sulfanilat- $\alpha$ -Nafilamin LP, 1739

Sulfanilat-1-Naftilamin LP, 1739  
Sulfasetamida Natrium, 1240  
Sulfasetamida, 1239  
Sulfur Precipitated, 215  
Sulfuric Acid, 165  
Sumatriptan Succinate, 1243  
Sumatriptan Suksinat, 1243  
Sumatriptan, 1241  
Supositoria Bisakodil, 245  
Supositoria, 55  
Suppositoria, 55  
Suspensi Medroksiprogesteron Asetat untuk Injeksi, 818  
Suspensi Oral Alumina dan Magnesia Karbonat, 89  
Suspensi Oral Alumina dan Magnesia, 88  
Suspensi Oral Alumina dan Magnesium Trisilikat, 92  
Suspensi Oral Alumina, Magnesia dan Kalsium Karbonat, 93  
Suspensi Oral Alumina, Magnesia dan Simetikon, 95  
Suspensi Oral Eritromisin Etilsuksinat, 386  
Suspensi Oral Fenitoin, 434  
Suspensi Oral Ibuprofen, 552  
Suspensi Oral Karbamazepin, 616  
Suspensi Oral Kloramfenikol Palmitat, 691  
Suspensi Oral Mebendazol, 813  
Suspensi Oral Meloksikam, 825  
Suspensi Oral Nevirapin, 933  
Suspensi Oral Nistatin, 951  
Suspensi Oral Parasetamol, 1000  
Suspensi Oral Pirantel Pamoat, 1022  
Suspensi Oral Rifampisin, 1096  
Suspensi Oral Sulfametoksazol dan Trimetoprim, 1236  
Suspensi Steril Kortison Asetat, 740  
Suspensi, 56  
Suspension, 56

## T

Tabel Alkoholometri, 1765  
Tabel Bobot Molekul, 1769  
Tabel Kesetaraan Termometri, 1784  
Tabel Larutan Isotonik, 1787  
Tablet Irbesartan dan Hidroklorotiazid, 575  
Tablet Alokspirin, 82  
Tablet Alopurinol, 83  
Tablet Alprazolam, 85  
Tablet Alprenolol Hidroklorida, 87  
Tablet Alumina dan Magnesia, 89  
Tablet Alumina dan Magnesium Karbonat, 90  
Tablet Alumina dan Magnesium Trisilikat, 92  
Tablet Amfetamin Sulfat, 103  
Tablet Amilorida Hidroklorida, 109  
Tablet Aminofilin, 112  
Tablet Amitriptilin Hidroklorida, 115

Tablet Amodiakuin Hidroklorida, 119  
Tablet Amoksisilin dan Kalium Klavulanat, 125  
Tablet Amoksisilin, 121  
Tablet Ampisilin, 130  
Tablet Antalgin, 844  
Tablet Asam Alendronat, 138  
Tablet Asam Aminokaproat, 141  
Tablet Asam Asetilsalisilat Didapar, 146  
Tablet Asam Asetilsalisilat, 145  
Tablet Asam Askorbat, 150  
Tablet Asam Folat, 154  
Tablet Asam Mefenamat, 158  
Tablet Asam Nalidiksik, 160  
Tablet Asebutolol Hidroklorida, 172  
Tablet Asetazolamida, 174  
Tablet Asetosal Didapar, 146  
Tablet Asetosal, 145  
Tablet Asiklovir, 182  
Tablet Astemizol, 184  
Tablet Atenolol, 186  
Tablet Atropin Sulfat, 192  
Tablet Azatioprin, 195  
Tablet Azitromisin, 200  
Tablet Besi(II) Fumarat, 229  
Tablet Betametason, 234  
Tablet Bisoprolol Fumarat, 250  
Tablet Bromokriptin Mesilat, 256  
Tablet Buspiron Hidroklorida, 265  
Tablet Busulfan, 266  
Tablet Dapson, 271  
Tablet Deksametason, 279  
Tablet Deksklorfeniramin Maleat, 287  
Tablet Diazepam, 305  
Tablet Didrogesteron, 311  
Tablet Dietilkarbamazin Sitrat, 313  
Tablet Difenhidramin Teoklat, 339  
Tablet Digitalis, 319  
Tablet Digitoksin, 321  
Tablet Digoksin, 323  
Tablet Diklofenak Kalium, 328  
Tablet Diltiazem Hidroklorida, 338  
Tablet Dimenhidrinat, 339  
Tablet Dipiridamol, 344  
Tablet Doksisiklin Hiklat, 356  
Tablet Efedrin Hidroklorida, 363  
Tablet Efervesen Asam Asetilsalisilat, 148  
Tablet Ekstrak Beladona, 213  
Tablet Enalapril Maleat, 368  
Tablet Ergometrin Maleat, 377  
Tablet Ergonovin Maleat, 377  
Tablet Ergotamin Tartrat dan Kofein, 381  
Tablet Ergotamin Tartrat, 380  
Tablet Eritromisin Etilsuksinat, 387  
Tablet Eritromisin Stearat, 388  
Tablet Eritromisin, 385  
Tablet Estrogen Terkonjugasi, 394  
Tablet Etambutol Hidroklorida, 398  
Tablet Famotidin, 414  
Tablet Feksofenadin Hidroklorida, 419  
Tablet Fenfluramin Hidroklorida, 425  
Tablet Fenilbutason, 427  
Tablet Fenobarbital, 440

Tablet Fitonadion, 451  
Tablet Flufenazin Hidroklorida, 456  
Tablet Fluoksetin, 463  
Tablet Furosemda, 479  
Tablet Gemfibrosil, 490  
Tablet Glibenklamida, 498  
Tablet Gliklazida, 500  
Tablet Glimepirida, 503  
Tablet Glipizida, 506  
Tablet Griseofulvin, 515  
Tablet Guaifenesin, 517  
Tablet Haloperidol, 519  
Tablet Hidroklorotiazid, 531  
Tablet Ibuprofen, 554  
Tablet Irbesartan, 574  
Tablet Irbesartan dan Hidroklorotiazid, 575  
Tablet Isoniazid, 579  
Tablet Isosorbid Dinitrat, 581  
Tablet Isosorbid Mononitrat, 586  
Tablet Kalsium Laktat, 605  
Tablet Kaptopril, 613  
Tablet Karbamazepin, 617  
Tablet Karisoprodol, 625  
Tablet Karvedilol, 628  
Tablet Ketokonazol, 637  
Tablet Ketorolak Trometamin, 642  
Tablet Klaritromisin, 647  
Tablet Klemastin Fumarat, 656  
Tablet Klomifen Sitrat, 671  
Tablet Klonazepam, 674  
Tablet Klonidin Hidroklorida, 678  
Tablet Klopidoget, 680  
Tablet Klorambusil, 683  
Tablet Klordiazepoksida Hidroklorida, 696  
Tablet Klordiazepoksida, 693  
Tablet Klorfeniramin Maleat, 700  
Tablet Klorokuin Fosfat, 709  
Tablet Klorpromazin Hidroklorida, 715  
Tablet Klorpropamida, 716  
Tablet Klortalidon, 718  
Tablet Klorzoksazon, 720  
Tablet Kodein Fosfat, 726  
Tablet Kolkhisin, 735  
Tablet Kotrimoksazol, 741  
Tablet Kuinidin Sulfat, 744  
Tablet Kuinin Sulfat, 749  
Tablet Kunyah Alumina, Magnesia dan Kalsium Karbonat, 94  
Tablet Kunyah Alumina, Magnesia dan Simetikon, 97  
Tablet Lepas Lambat Isosorbid Dinitrat, 581  
Tablet Lepas Lambat Isosorbid Mononitrat, 588  
Tablet Lepas Lambat Klaritromisin, 648  
Tablet Lepas Lambat Nifedipin, 941  
Tablet Lepas Tunda Asam Asetilsalisilat, 148  
Tablet Lepas Tunda Bisakodil, 245  
Tablet Lepas Tunda Diklofenak Natrium, 331  
Tablet Leukovorin Kalsium, 765  
Tablet Levamisol Hidroklorida, 767

- Tablet Levonorgestrel dan Etinil Estradiol, 771  
Tablet Levotiroksin Natrium, 774  
Tablet Lisinopril, 784  
Tablet Loperamida Hidroklorida, 787  
Tablet Loratadin, 792  
Tablet Lorazepam, 794  
Tablet Losartan Kalium, 798  
Tablet Lovastatin, 801  
Tablet Luminal, 440  
Tablet Mebendazol, 814  
Tablet Medroksiprogesteron Asetat, 818  
Tablet Meloksikam, 827  
Tablet Merkaptopurin, 836  
Tablet Metadon Hidroklorida, 843  
Tablet Metampiron, 844  
Tablet Metenamin Mandelat, 847  
Tablet Metformin Hidroklorida, 849  
Tablet Metildopa, 852  
Tablet Metilergometrin Maleat, 855  
Tablet Metilergonovin Maleat, 855  
Tablet Metilprednisolon, 859  
Tablet Metoklopramida Hidroklorida, 866  
Tablet Metoprolol Tartrat, 869  
Tablet Metotreksat, 872  
Tablet Metronidazol, 874  
Tablet Nadolol, 890  
Tablet Naproksen Natrium, 900  
Tablet Natrium Aminosalisilat, 904  
Tablet Natrium Bikarbonat, 909  
Tablet Natrium Subkarbonat, 909  
Tablet Neostigmin Bromida, 930  
Tablet Nevirapin, 936  
Tablet Nistatin, 951  
Tablet Nitrazepam, 953  
Tablet Nitroglicerina, 960  
Tablet Noretindron, 962  
Tablet Noretisteron, 962  
Tablet Ofloksasin, 967  
Tablet Ondansetron, 987  
Tablet Papaverin Hidroklorida, 996  
Tablet Parasetamol, 1001  
Tablet Penisilin V, 1006  
Tablet Perfenazin, 1010  
Tablet Piperazin Fosfat, 1018  
Tablet Piperazin Sitrat, 1020  
Tablet Pirazinamida, 1024  
Tablet Pirodoksina Hidroklorida, 1026  
Tablet Piroksikam, 1031  
Tablet Pravastatin Natrium, 1042  
Tablet Prazikuantel, 1045  
Tablet Prazosin Hidroklorida, 1047  
Tablet Prednisolon, 1049  
Tablet Prednison, 1053  
Tablet Primakuin Fosfat, 1054  
Tablet Probenesid, 1056  
Tablet Prometazin Hidroklorida, 1064  
Tablet Propiltiourasil, 1073  
Tablet Propranolol Hidroklorida, 1068  
Tablet Ranitidin Hidroklorida, 1082  
Tablet Repaglinida, 1085  
Tablet Reserpin, 1087  
Tablet Rifampisin, Isoniazid, dan Pirazinamida, 1100  
Tablet Rifampisin, Isoniazid, Pirazinamida dan Etambutol Hidroklorida, 1102  
Tablet Risedronat Natrium, 1109  
Tablet Risperidon, 1112  
Tablet Salbutamol, 1121  
Tablet Sefadrosil, 1126  
Tablet Sefaleksina, 1133  
Tablet Sefiksima, 1146  
Tablet Sefradin, 1156  
Tablet Sefuroksim Aksetil, 1168  
Tablet Siklofosfamid, 1180  
Tablet Silostazol, 1190  
Tablet Simetidin, 1192  
Tablet Simvastatin, 1195  
Tablet Siprofloksasin, 1198  
Tablet Siproheptadin Hidroklorida, 1199  
Tablet Skopolamin Hidrobromida, 1209, 548  
Tablet Spirolonakton, 1213  
Tablet Sublingual Isosorbid Dinitrat, 583  
Tablet Sulfadoksina dan Pirimetamina, 1231  
Tablet Sulfametoksazol dan Trimetoprim, 741, 1238  
Tablet Tamoksifen Sitrat, 1249  
Tablet Terbutalin Sulfat, 1253  
Tablet Tiamin Hidroklorida, 1267  
Tablet Tolbutamid, 1280  
Tablet Triheksifenidil Hidroklorida, 1289  
Tablet Trimetoprim, 1291  
Tablet Vaginal Klotrimazol, 724  
Tablet Vaginal Nistatin, 952  
Tablet Verapamil Hidroklorida, 1317  
Tablet Vitamin B1, 1267  
Tablet Vitamin C, 150  
Tablet Warfarin Natrium, 1324  
Tablet Zidovudin, 1331  
Tablet, 57  
Tablet, 57  
Tabung Detektor Amonia, 1739  
Tabung Detektor Belerang Dioksida, 1739  
Tabung Detektor Hidrogen Sulfida, 1739  
Tabung Detektor Karbon Monoksida, 1739  
Tabung Detektor Nitrogen Oksida-Nitrogen Dioksida, 1739  
Tabung Detektor Uap Air, 1739  
Talcum, 1247  
Tallium <sup>201</sup>Ti Chloride Injection, 1245  
Talk P, 1739  
Talk, 1247  
Tamoksifen Sitrat, 1247  
Tamoksifen Citrate Tablet, 1249  
Tamoksifen Citrate, 1247  
Tanah Fuller Untuk Kromatografi P, 1739  
Tanah Silika Untuk Kromatografi P, 1739  
Tanin P, 1740  
Tapioca Starch, 1003  
Tartaric Acid, 166  
Tawas, 100  
Tembaga (II) Sulfat 0,02 M LV, 1759  
Tembaga Karbonat P, 1740  
Tembaga(II) Iodida Alkali LP, 1740  
Tembaga(II) Oksida Amoniakal LP (A), 1740  
Tembaga(II) Oksida Amoniakal LP, 1740  
Tembaga(II) Sitrat Alkali LP, 1740  
Tembaga(II) Sulfat Anhidrat P, 1740  
Tembaga(II) Sulfat LK, 1751  
Tembaga(II) Sulfat LP, 1740  
Tembaga(II) Sulfat P, 1740  
Tembaga(II) Tartrat Alkali LP, 1740  
Tembaga, Lembaran P, 1740  
Tenoksikam, 1250  
Tenoxicam, 1250  
Teofilin Etilendiamin, 111  
Teofilin, 1250  
Terbutalin Sulfat, 1251  
Terbutaline Sulfate Tablet, 1253  
Terbutaline Sulfate, 1251  
Termometer, 1341  
Testosteron Enantat, 1253  
Testosteron Propionat, 1254  
Testosterone Enantate, 1253  
Testosterone Propionate, 1254  
Tetanus Antitoxin, 564  
Tetanus Immunoglobulin, 562  
Tetanus Vaccine, Adsorbed, 1305  
Tetes Hidung Oksimetazolin Hidroklorida, 972  
Tetes Hidung Silometazolin Hidroklorida, 1188  
Tetes Mata Atropin Sulfat, 193  
Tetes Mata Gentamisin Sulfat, 494  
Tetes Mata Homatropin Hidrobromida, 550  
Tetes Mata Kloramfenikol, 687  
Tetes Mata Pilocarpin Hidroklorida, 1013  
Tetes Mata Pilocarpin Nitrat, 1014  
Tetes Mata Sulfasetamida Natrium, 1241  
Tetes Mata Suspensi Prednisolon Asetat, 1051  
Tetes Mata Timolol Maleat, 1271  
Tetes Mata Tobramisin, 1278  
Tetes Mata Tropicamid, 1295  
Tetes Telinga Kloramfenikol, 688  
Tetrabutylamonium Hidrogen Sulfat P, 1740  
Tetrabutylamonium Hidroksida 0,1 N LV, 1760  
Tetrabutylamonium Hidroksida P, 1740  
Tetrabutylamonium Iodida P, 1740  
Tetracaine Hydrochloride, 1256  
Tetracaine, 1255  
Tetracycline Hydrochloride Capsule, 1260  
Tetracycline Hydrochloride Ophthalmic Ointment, 1261  
Tetracycline Hydrochloride, 1258  
Tetracycline Phosphate Complex Capsule, 1263

- Tetracycline Phosphate Complex, 1261  
Tetracycline, 1257  
Tetradekana P, 1741  
Tetraetilamonium Perklorat P, 1741  
Tetrahidrofuran P, 1741  
Tetrahidrozolin Hidroklorida, 1255  
Tetrahidrozoline Hydrochloride, 1255  
Tetrakain Hidroklorida, 1256  
Tetrakain, 1255  
Tetrametilamonium Hidroksida LP, 1741  
Tetrametilamonium Hidroksida P, 1741  
Tetrametilamonium Nitrat P, 1741  
Tetrasiklin Fosfat Kompleks, 1261  
Tetrasiklin Hidroklorida, 1258  
Tetrasiklin, 1257  
Theophylline, 1250  
Thiamine Hydrochloride Injection, 1266  
Thiamine Hydrochloride Tablet, 1267  
Thiamine Hydrochloride, 1265  
Thiamine Mononitrate, 1268  
Thiamphenicol, 1264  
Thimerosal, 1268  
Thiopental Sodium for Injection, 1274  
Thiopental Sodium, 1273  
Thymol, 1270  
Tiamfenikol, 1264  
Tiamin Hidroklorida P, 1741  
Tiamin Hidroklorida, 1265  
Tiamin Mononitrat, 1268  
Timah P, 1741  
Timah(II) Klorida Asam LP, 1741  
Timah(II) Klorida LP, 1741  
Timah(II) Klorida P, 1741  
Timah(II) Klorida Pekat Asam LP, 1741  
Timbal Dioksida P, 1741  
Timbal Monoksida P, 1741  
Timbal(II) Asetat LP, 1742  
Timbal(II) Asetat P, 1742  
Timbal(II) Nitrat 0,05 M LV, 1760  
Timbal(II) Nitrat P, 1742  
Timbal(II) Perklorat P, 1742  
Timbal(II) Subasetat LP (A), 1742  
Timbal(II) Subasetat LP, 1742  
Timbal(IV) Oksida P, 1742  
Timbangan dan Anak Timbangan, 1342  
Timerosal, 1268  
Timol, 1270  
Timolftalein LP, 1742  
Timolftalein P, 1742, 1747  
Timolol Maleat Ophthalmic Solution, 1271  
Timolol Maleat, 1270  
Timolol Maleate, 1270  
Tingtur Guaiakum LP, 1742  
Tioasetamida LP, 1742  
Tioasetamida P, 1742  
Tioconazole, 1272  
Tiokonazol, 1272  
Tiopental Natrium untuk Injeksi, 1274  
Tiopental Natrium, 1273  
Tiourea P, 1742  
Titan Triklorida P, 1742  
Titan(III) Klorida 0,1 N LV, 1760  
Titan(III) Klorida P, 1742  
Titanium Tetraklorida, 1742  
Titrimetri, 1480  
Tobramisin untuk Injeksi, 1278  
Tobramisin, 1275  
Tobramycin for Injection, 1278  
Tobramycin Injection, 1277  
Tobramycin Ophthalmic Ointment, 1277  
Tobramycin Ophthalmic Solution, 1278  
Tobramycin, 1275  
Tocopherol Acetate, 79  
Tocopherol, 77  
Tolbutamid, 1279  
Tolbutamide Tablet, 1280  
Tolbutamide, 1279  
Toluen P, 1743  
Torium Nitrat LP, 1743  
Torium Nitrat P, 1743  
Tragacanth, 1281  
Tragakan, 1281  
Tramadol Hidroklorida, 1281  
Tramadol Hydrochloride, 1281  
Tretinoin Cream, 163  
Tretinoin Gel, 162  
Tretinoin, 161  
Triamcinolone Acetonide, 1286  
Triamcinolone, 1285  
Triamsinolon Asetonida, 1286  
Triamsinolon, 1285  
Trietanolamina P, 1743  
Trietilamin P, 1743  
Trifluoperazin Hidroklorida, 1287  
Trifluoperazine Hydrochloride, 1287  
Triheksifenidil Hidroklorida, 1288  
Trihexiphenidyl Hydrochloride Tablet, 1289  
Trihexiphenidyl Hydrochloride, 1288  
Triketohidrinden Hidrat LP, 1743  
Triketohidrinden Hidrat P, 1743  
Trikloroetana P, 1743  
Trikloroetilen P, 1743  
Trimethoprim Tablet, 1291  
Trimethoprim, 1290  
Trimetilklorosilan P, 1743  
2,2,4-Trimetilpentan P, 1743  
Trimetoprim, 1290  
Trinatrium Sitrat Dihidrat P, 1744  
Trinitrofenol LP, 1744  
Trinitrofenol P, 1744  
Trioktilfosfina Oksida P, 1744  
Tripelenamin Hidroklorida, 1292  
Tripelenamin Hydrochloride, 1292  
Triprolidin Hidroklorida, 1293  
Triprolidine Hydrochloride, 1293  
Tris(Hidroksimetil) Aminometan P, 1744  
Tris(Hidroksimetil)Metilamin P, 1744  
Trometamina P, 1744  
Tropicamide Ophthalmic Solution, 1295  
Tropicamide, 1294  
Tropikamid, 1294  
Tuberculine Purified Protein Derivative, 1295  
Tuberkulin PPD, 1295  
Tubocurarine Chloride, 1296  
Tubokurarin Klorida, 1296  
Tutup Elastomerik Untuk Injeksi, 1485  
Typhoid Vaccine, 1306

## U

- Uji Aerosol, 1595  
Uji Bahan Tambahan Dalam Vaksin dan Imunoserum, 1490  
Uji Batas 4-Epianhidrotetrasiklin, 1427  
Uji Batas Aluminium, 1427  
Uji Batas Arsen, 1428  
Uji Batas Besi, 1429  
Uji Batas Dimetilaminil, 1433  
Uji Batas Etilen Oksida dan Dioksan, 1430  
Uji Batas Kalsium, Kalium dan Natrium, 1432  
Uji Batas Klorida dan Sulfat, 1432  
Uji Batas Logam Berat, 1433  
Uji Batas Mikroba, 1343  
Uji Batas Raksa, 1436  
Uji Batas Selenium, 1438  
Uji Batas Timbal, 1439  
Uji Daya Hipotensif, 1405  
Uji Daya Serap, 1605  
Uji Disolusi, 1605  
Uji Efektifitas Pengawet, 1354  
Uji Hemolisin, 1411  
Uji Histamin, 1411  
Uji Identifikasi Umum, 1422  
Uji Kinerja Resistensi Indikator Biologi, 1357  
Uji Kinerja Wadah, 1627  
Uji Pirogen, 1412  
Uji Reaktivitas Biologi Secara In-Vitro, 1413  
Uji Reaktivitas Biologi Secara In-Vivo, 1415  
Uji Salep Mata, 1612  
Uji Sterilitas, 1359  
Uji Waktu Hancur, 1613  
Uji Zat Mudah Terarangkan, 1440  
Undecylenic Acid, 166  
Ungu Bromokresol LP, 1744  
Ungu Bromokresol P, 1744, 1747  
Ungu Metil LP, 1744  
Uranil Asetat P, 1744  
Urasil P, 1744  
Urea P, 1744  
Uridin P, 1744
- ## V
- Vaccine, 59  
Vaksin Basil Calmette-Guerin Beku Kering, 1297  
Vaksin Campak, Hidup, 1298  
Vaksin Demam Kuning, Hidup, 1298

Vaksin Difteri dan Tetanus Jerap, 1299  
Vaksin Difteri, Tetanus dan Pertusis  
Jerap, 1300  
Vaksin Hepatitis B Asal Plasma  
Manusia, 1301  
Vaksin Kolera, 1302  
Vaksin Polio Oral, Hidup, 1302  
Vaksin Polisakarida Meningokokus,  
1303  
Vaksin Rabies, 1304  
Vaksin Tetanus Jerap, 1305  
Vaksin Tifus, 1306  
Vaksin, 59  
Validasi Prosedur Dalam Farmakope,  
1669  
Valproic Acid Capsule, 168  
Valproic Acid Syrup, 169  
Valproic Acid, 167  
Valsartan, 1307  
Valser, Preaksi, 1744  
Vanadium Pentoksida P, 1744  
Vancomycin Hydrochloride, 1309  
Vanilin P, 1745  
Vanilin, 1309  
Vanillin, 1309  
Vankomisin Hidroklorida, 1309  
Vaselin Kuning, 1311  
Vaselin Putih, 1312  
Vecuronium Bromide, 1312  
Vekuronium Bromida, 1312  
Verapamil Hidroklorida, 1314  
Verapamil Hydrochloride Injection,  
1315  
Verapamil Hydrochloride Tablet, 1317  
Verapamil Hydrochloride, 1314  
Verifikasi Prosedur Dalam Farmakope,  
1673  
Vinblastin Sulfat, 1318  
Vinblastine Sulfate, 1318  
Vincristine Sulfate, 1320  
Vinkristin Sulfat, 1320  
Vioform, 663  
Vitamin A, 71  
Vitamin B<sub>12</sub>, 1174  
Vitamin C, 149  
Vitamin D, 374  
Vitamin E Asetat, 79  
Vitamin E, 77  
Vitamin K1, 450  
Volume Terpindahkan, 1614

## W

Wadah, 1618  
Warfarin Kalium, 1321  
Warfarin Natrium, 1322  
Warfarin Pottasium, 1321  
Warfarin Sodium Tablet, 1324  
Warfarin Sodium, 1322  
Warna dan Akromisitas, 1631  
Wheat Starch, 1002  
White Vaseline, 1312  
Whole Blood, 272

## X

Xilena P, 1745  
Xilometazolin Hidroklorida, 1325  
Xilosa P, 1745  
Xylometazoline Hydrochloride Nasal  
Solution, 1188  
Xylometazoline Hydrochloride, 1325

## Y

Yellow Fever Vaccine, Live, 1298  
Yellow Vaseline, 1311

## Z

Zat Larut Dalam Air, 1633  
Zat Larut Dalam Eter, 1633  
Zidovudin, 1326  
Zidovudine Capsule, 1328  
Zidovudine Injection, 1327  
Zidovudine Oral Solution, 1329  
Zidovudine Tablet, 1331  
Zidovudine, 1326  
Zinc Chloride, 1332  
Zinc Oxide, 1333  
Zinc Sulfate, 1333  
Zinc Undecylenate, 1334  
Zink Aktif P, 1745  
Zink Butiran P, 1745  
Zink Granul P, 1745  
Zink Klorida P, 1745  
Zink Klorida, 1332  
Zink Oksida, 1333  
Zink Oxide Surgical Adhesive Tape,  
1032  
Zink P, 1745  
Zink Sulfat 0,05 M LV, 1761  
Zink Sulfat P, 1745  
Zink Sulfat, 1333  
Zink Undesilenat, 1334