PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR METIL PREDNISOLON DALAM SEDIAAN *DRY INJECTION* DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

Dewi Kurnia¹, Eny Tri Pujilestari¹, Indro Pamudjo¹
¹Prodi Sarjana Farmasi, Sekolah Tinggi farmasi Bandung

dewi.kurnia@stfb.ac.id

Artikel Info

Diterima
tanggal
12.12.2018

Disetujui
publikasi
tanggal
30.04.2019

Kata kunci :
dry injection,
KCKT, metil
prednisolon,
pengembangan
metode

ABSTRAK

Penetapan kadar metil prednisolon berdasarkan *United States Pharmacopeia* (USP) adalah menggunakan kolom L3 4 mm x 25cm dan eluen butil klorida : butil klorida jenuh air : tetrahidrofuran : metanol dan asam asetat glasial (95:95:14:7:6). Tetrahidrofuran memiliki sifat oksidatif sehingga dapat merusak kolom. Oleh karena itu, dilakukan pengembangan metode penetapan kadar metil prednisolon dengan cara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan kolom C18 dengan fase gerak asetonitril : metanol (45:55); laju alir 1,0 ml/menit; panjang gelombang 243 nm, dan volume penyuntikan 20 μ L. Pada hasil validasi diperoleh nilai linieritas yang baik ($r = 0,9969$). Hasil perolehan kembali (% *recovery*) = 100,38% – 101,17%. Dari hasil uji presisi diperoleh % *RSD* sebesar 0,12% yang memenuhi syarat ≤ 2 . Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pengembangan metode dan hasil validasi tersebut dapat digunakan untuk analisis penetapan kadar metil prednisolon dalam sediaan *dry injection*.

ABSTRACT

Determination of methyl prednisolone levels based on *United States Pharmacopeia* (USP) using L3 column 4 mm x 25cm and eluent buthyl chloride: water saturated buthyl chloride: tetrahydrofuran : methanol and glacial acetic acid (95:95:14:7:6). Tetrahydrofuran has oxidative properties that can damage the column. Therefore, a method of determining the levels of methyl prednisolone by means of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using C18 column with acetonitrile: methanol (45:55) as eluent, flow rate 1.0 ml / min, wavelength 243 nm, and 20 μ L injection volume. In the validation results obtained a good linearity value ($r = 0,9969$). The result of recovery 100,38 - 101,17%. From the result of precision test was obtained % *RSD* equal to 0,12% which fulfill requirement ≤ 2 . All the research results can be concluded that the development of methods and results validation can be used for the analysis of determination of methyl prednisolones in dry injection supply

PENDAHULUAN

Industri farmasi mempunyai peranan penting dalam peningkatan derajat kesehatan masyarakat dengan memproduksi obat yang bermutu dan berkualitas sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. Untuk menjamin tercapainya target dalam memenuhi

permintaan obat yang berkualitas, pemerintah melalui Badan Pengawas Obat dan Makanan harus memberikan panduan Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB).

Metil prednisolon adalah obat kortikosteroid atau glukokortikoid sintetis. Seperti kebanyakan adrenokortikal steroid, metil prednisolon biasanya digunakan sebagai obat anti inflamasi (Kwon, 2002). Obat ini dipasarkan di Amerika Serikat dan Kanada dengan merk Medrol dan Solu Medrol. Obat ini tersedia sebagai obat generik. Metil prednisolon termasuk dalam Daftar Obat Esensial WHO karena metil prednisolon merupakan daftar obat-obatan yang dibutuhkan dalam sistem kesehatan dasar.

Menurut USP 38 penetapan kadar metil prednisolon menggunakan KCKT dengan pelarut sampel maupun larutan baku menggunakan kloroform : asam asetat glasial (97:3) dengan eluen butil klorida : butil klorida jenuh air : tetrahidrofur : metanol dan asam asetat glasial (95:95:14:7:6) menggunakan detektor UV 254 nm, kolom L3 4 mm x 25cm, kecepatan alir 1,0 ml/min. Menurut Farmakope Indonesia Edisi V penetapan kadar metil prednisolon menggunakan KCKT dengan eluen air : tetrahidrofur : dimetilsulfoksida : butanol (149:40:10:1) dan pelarut sampel maupun larutan baku yaitu campuran air : tetrahidrofur: asam asetat glasial (72:25:3) (Depkes RI, 2014). Penggunaan tetrahidrofur dalam analisis rutin dapat menurunkan kinerja kolom (Major, 2003). Untuk itu, perlu dilakukan modifikasi eluen yang tidak merusak terhadap kolom.

Metode analisis baku seringkali dimodifikasi untuk menyesuaikan kondisi dengan peralatan yang tersedia di laboratorium pengujian. Modifikasi ini harus divalidasi untuk memastikan pelaksanaan pengujian yang sesuai dari metode analisis (Gandjar dan Rohman, 2007). Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi penggunaan eluen terhadap metode analisis yang telah dipublikasikan dan validasi dari modifikasi tersebut menggunakan KCKT. Modifikasi metode yang dilakukan pada optimasi fase gerak berdasarkan kelarutan sampel.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat KCKT UFLC (*Ultra Fast Liquid Chromatography*) Shimadzu dengan pompa LC-20AT, detektor UV-Vis SPD-20A, *system controller* CBM-20A, kolom phenomenex C18 panjang 150 x 3,90 mm, timbangan analitik *Mettler Toledo*, Ultrasonic bath, penyaring vakum beserta filter berpori milipore 0,45 µl. Bahan yang

digunakan adalah metil prednisolon dalam sediaan dry injection, baku pembanding metil prednisolon, asam asetat glasial p.a (J.T. Baker), kloroform p.a (J.T. Baker), asetonitril HPLC *ultra gradient solvent* (J.T. Baker), metanol HPLC *ultra gradient solvent* (J.T. Baker).

Prosedur

Pembuatan Larutan Induk Metil Prednisolon

Sebanyak 50,0 mg baku pembanding metil prednisolon ditimbang seksama kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml. Dilarutkan dalam campuran pelarut asam asetat glasial : kloroform (3:97) kemudian disonifikasi selama 15 menit dan ditambah lagi pelarut asam asetat glasial : kloroform (3:97) dan ditandabatkan..

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum untuk Analisis

Serapan ultraviolet larutan standar metil prednisolon dalam asam asetat glasial : kloroform (3:97) pada panjang gelombang 200 – 400 nm dipindai menggunakan Spektrofotometer UV untuk menentukan panjang gelombang maksimumnya.

Optimasi Fase Gerak

Larutan standar metil prednisolon diinjeksikan sebanyak 20 µL pada komposisi fase gerak asetonitril : metanol pada perbandingan (80:20); (70:30); (60:40) ; (50:50); (45:55); (40:60) dengan kecepatan alir 0,8 – 1,0 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum kemudian dicatat data mengenai waktu retensi, luas puncak, jumlah plat teoritis, resolusi, faktor kapasitas dan asimetrisitasnya.

Uji Kesesuaian Sistem

Larutan standar metil prednisolon diinjeksikan sebanyak 20 µL ke alat KCKT dengan fase gerak yang telah ditentukan, diulangi sebanyak 6 kali. Kemudian dihitung jumlah plat teoritis, resolusi, faktor kapasitas, asimetrisitas, dan % *RSD*.

Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Larutan blanko dibuat menggunakan pelarut asam asetat glasial: kloroform (3:97) dan deret larutan standar metil prednisolon dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, 12 bpj (b/v). Kemudian dipreparasi sesuai prosedur kemudian diinjeksikan ke alat KCKT. Dilakukan analisis regresi linier luas puncak terhadap konsentrasi deret larutan standar dan dibuat kurva kalibrasinya dengan persamaan garis regresi linier ($y = bx + a$).

Limit Deteksi (*LoD*) dan Limit Kuantitasi (*LoQ*)

Larutan sampel metil prednisolon pada sediaan *dry injection* dipreparasi seperti prosedur uji kesesuaian sistem. Kemudian 20 μ L larutan sampel diinjeksikan pada alat KCKT. Setelah itu dianalisis berdasarkan persamaan kurva kalibrasi larutan standar metil prednisolon sebanyak 6 kali penginjeksian sampel.

Uji Selektivitas

Setelah diketahui panjang gelombang maksimum dari hasil penentuan panjang gelombang maksimum untuk larutan metil prednisolon yaitu 243 nm. Selanjutnya, dibuat larutan baku dan larutan uji metil prednisolon. Kemudian diinjeksikan ke alat KCKT sebanyak 20 μ L dan dicatat waktu retansinya. Hasil kromatogram metil prednisolon larutan baku dan larutan uji harus menunjukkan waktu retensi yang sama.

Akurasi dan Presisi

Untuk keperluan uji akurasi dibuat larutan sampel metil prednisolon pada sediaan *dry injection* dengan konsentrasi 100 mg (80%), 125 mg (100%) dan 150 mg (120%). Setelah itu dipreparasi sesuai prosedur uji kesesuaian sistem. Larutan sampel tersebut diambil 20 μ L dan diinjeksikan ke dalam alat KCKT kemudian diulangi sebanyak 6 kali. Hasil yang diperoleh dihitung persentase akurasi dan perolehan kembali dari masing-masing larutan tersebut. Nilai rata-rata % akurasi disyaratkan $\leq 2\%$. Sedangkan nilai perolehan kembali dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{\text{konsentrasi sampel yang diperoleh}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%.$$

Untuk keperluan uji presisi dibuat larutan sampel metil prednisolon pada sediaan *dry injection* dengan menimbang sampel sebanyak 6 kali. Setelah itu dipreparasi sesuai prosedur uji kesesuaian sistem. Larutan sampel tersebut diambil 20 μ L dan diinjeksikan ke dalam alat KCKT. Kemudian dihitung % *RSD* dari masing-masing konsentrasi dengan syarat batas nilai % *RSD* $\leq 2\%$.

Penetapan Kadar Metil Prednisolon pada Sediaan *Dry Injection*

Sampel metil prednisolon ditimbang 125 mg dimasukkan ke corong pisah dan ditambahkan 20 ml pelarut kloroform : asam asetat glasial (97:3). Kemudian dikocok selama 3 menit dan didiamkan hingga terbentuk 2 fase. Setelah itu diambil fase bawah dan dimasukkan ke

dalam labu takar 100 ml. Proses ekstraksi dalam corong pisah diulangi 2 kali hingga sampel larut sempurna. Larutan sampel dalam labu takar 100 ml ditambah pelarut kloroform : asam asetat (97:3) hingga tanda garis batas dan dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran 25 kali dengan memipet dengan seksama 1,0 ml larutan sampel dimasukkan ke dalam tabu takar 25 ml dan ditambahkan pelarut hingga tanda garis batas. Setelah itu dilakukan pengenceran 5 kali dengan memipet dengan seksama 5,0 ml dimasukkan labu takar 25 ml dan ditambahkan pelarut hingga tanda garis batas lalu disaring dengan mikrofilter 0,45 μm .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengembangan metode analisis penetapan kadar metil prednisolon dalam sediaan *dry injection* dilakukan dengan memodifikasi komposisi eluen yang digunakan. Sampel tersebut dipilih karena metil prednisolon termasuk dalam Daftar Obat Esensial WHO (daftar obat-obatan yang dibutuhkan dalam sistem kesehatan dasar). Metil prednisolon dikenal sebagai obat antiinflamasi yang dipasarkan dalam bentuk tablet dan *dry injection*. Pengembangan metode analisis bertujuan untuk memperoleh metode analisis yang bebas galat, memberikan informasi analitik yang baik, mudah dilakukan dalam waktu singkat, murah dan cepat.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan larutan standar metil prednisolon dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ (b/v). Hasil pengukuran serapan maksimum menunjukkan bahwa metil prednisolon memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 243 nm sebagaimana yang ditunjukkan oleh Gambar 1. Pengukuran serapan maksimum dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV. Metil prednisolon dapat diukur dengan spektrofotometer UV karena memiliki gugus kromofor yaitu hidroksil (-OH) dan karbonil (C=O) sebagaimana terlihat pada Gambar 2. Pada alat spektrofotometer diatur rentang panjang gelombang 200 – 400 nm kemudian dimasukkan blanko dan larutan standar. Setelah itu dilakukan pemindaian spektrum. Serapan sampel yang diukur pada panjang gelombang maksimum berada pada rentang serapan antara 0,2 – 0,8.

Gambar 1. Spektrum metil prednisolon

Gambar 2. Rumus struktur metil rednisolon

Optimasi Fase Gerak

Fase gerak merupakan parameter penting dalam pemisahan dengan kromatografi terutama KCKT. Penentuan fase gerak yang digunakan berdasarkan pertimbangan sifat kepolaran sampel yang akan dipisahkan. Sistem pemisahan yang biasa digunakan pada analisis metil prednisolon dengan KCKT adalah fase terbalik. Fase diam yang digunakan yaitu kolom C18 yang bersifat non polar. Eluen yang digunakan memiliki selektivitas berlainan dalam fungsinya sebagai fase gerak. Metode elusi yang digunakan untuk pengoptimuman fase gerak menggunakan metode elusi isokratik. Interaksi yang cukup rendah antara asetonitril dan metanol dengan fase diam disebabkan oleh sifat semi polar kedua fase gerak tersebut berdasarkan nilai indeks kepolaran yaitu metanol 5,1 dan asetonitril 5,8. Sebaliknya, interaksi relatif lebih kuat kedua pelarut tersebut dengan komponen sampel menyebabkan seluruh komponen sampel keluar bersamaan dengan pelarut dalam waktu yang relatif cepat.

Tabel 1. Optimasi komposisi fase gerak dan laju alir

Laju alir (mL/mnt)	perbandingan asetonitril : MeOH	Laju alir (mL/mnt)	perbandingan asetonitril : MeOH	Laju alir (mL/mnt)	perbandingan asetonitril : MeOH
0,8	80 : 20	1,0	80 : 20	1,2	80 : 20
	70 : 30		70 : 30		70 : 30
	60 : 40		60 : 40		60 : 40
	50 : 50		50 : 50		50 : 50
	45 : 55		45 : 55		45 : 55
	40 : 60		40 : 60		40 : 60

Keterangan : Pada larutan standar metil prednisolon dengan konsentrasi 10 µg/ml, panjang gelombang 243 nm dan volume penyuntikan sebanyak 20 µl.

Tabel 2. Hasil optimasi komposisi fase gerak dan laju alir

Laju alir (mL/mnt)	Komposisi fase gerak	waktu retensi	Luas area	Jml lempeng teoritis	<i>Tailing</i> <i>factor</i>	Resolusi	Faktor kapasitas
1,0	80 : 20	1,726	6245905	1739,014	1,353	3,012	0,964
	70 : 30	1,714	6307144	2477,207	1,394	2,745	0,945
	60 : 40	1,690	6379791	2949,905	2,162	3,942	0,901
	50 : 50	1,681	6436357	2734,177	2,207	3,818	0,884
	45 : 55	1,607	6631900	2670,152	0,968	1,566	1,062
	40 : 60	1,584	5017266	1145,644	3,324	1,995	0,762

Keterangan : Pada larutan standar metil prednisolon dengan konsentrasi 10 µg/ml, laju alir 1,0 ml/menit, panjang gelombang 243 nm dan volume penyuntikan sebanyak 20 µl.

Sampel dilarutkan menggunakan pelarut sampel campuran kloroform dan asam asetat yang berfungsi untuk menarik metil prednisolon. Penggunaan asam asetat juga diketahui dapat meningkatkan waktu retensi dan resolusi. Peningkatan waktu retensi menyebabkan komponen sampel keluar dari kolom tidak bersamaan dan secara langsung akan meningkatkan resolusi dari puncak yang dihasilkan (Johnson dan Stevenson, 1991). Pada penelitian ini diperoleh fase gerak optimum untuk analisis metil prednisolon dengan KCKT adalah asetonitril : metanol dengan perbandingan 45:55 (v/v) dengan laju alir 1,0 ml/menit, volume injeksi 20 µl pada panjang gelombang 243 nm.

Analisis metil prednisolon dengan instrumen KCKT dilakukan menggunakan kolom C18 dan detektor UV. Berdasarkan hasil puncak kromatogram maka ditetapkan campuran asetonitril :

metanol dengan perbandingan 45:55 (v/v) sebagai fase gerak optimum. Pada komposisi tersebut diperoleh resolusi kromatogram paling baik di lihat dari rendahnya nilai tailing factor yang dihasilkan. Data macam-macam kombinasi fase gerak yang diujikan pada pencarian fase gerak optimum disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Uji Kesesuaian Sistem

Uji Kesesuaian sistem dilakukan dengan penggunaan larutan standar metil prednisolon 10 bpj (b/v) dengan pengulangan 6 kali penginjeksian pada alat KCKT. Pada uji kesesuaian sistem terdapat parameter untuk menetapkan kesesuaian sistem sebelum analisis meliputi jumlah plat teoritis, resolusi, *tailing factor*, faktor kapasitas dan nilai koefisien variasi dari serangkaian injeksi. Syarat utama suatu sistem dinyatakan sesuai adalah % *RSD* dari luas area yaitu $\leq 2\%$ (Gandjar dan Rohman, 2007). Berikut adalah data hasil pengujian kesesuaian sistem yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian rata-rata kesesuaian sistem

Parameter uji	Persyaratan	Hasil uji
Jml plat teoritis (N)	> 2500	2645,669
Tailing factor (TF)	≤ 2	0,9433
Faktor kapasitas (k)	1 - 10	1,0692
% <i>RSD</i>	$\leq 2\%$	0,23%
Resolusi (Rs)	$\geq 1,5$	1,5657

Keterangan : Pada larutan standar metil prednisolon dengan konsentrasi 10 µg/ml.

Jumlah plat teoritis (N) adalah banyaknya distribusi keseimbangan dinamis yang terjadi di dalam suatu kolom. Dalam proses pemisahan diharapkan menghasilkan harga N yang besar. Pada umumnya efisiensi kolom KCKT meningkat dengan semakin kecilnya ukuran partikel yang ada di dalam kolom (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil rata-rata perhitungan jumlah plat teoritis diperoleh 2645,669 yang memenuhi syarat uji kesesuaian sistem yaitu > 2500 sehingga dihasilkan pemisahan yang lebih baik.

Tailing factor (TF) adalah terjadinya pengekoran pada kromatogram sehingga bentuk kromatogram menjadi tidak simetris. Kromatogram yang mempunyai nilai $TF = 1$ menunjukkan bahwa kromatogram tersebut bersifat setangkup atau simetris. Sedangkan nilai $TF > 1$

menunjukkan bahwa kromatogram mengalami pengekoran (*tailing*). Semakin besar nilai TF maka kolom yang dipakai semakin kurang efisien (Gandjar dan Rohman, 2007). Dari hasil pengukuran diperoleh rata-rata nilai TF sebesar 0,9433 yang mendekati 1 sehingga kromatogram bersifat simetris.

Faktor kapasitas (k') merupakan ukuran retensi suatu komponen dalam kolom. Jika nilai k' kecil, maka komponen tertahan sebentar dalam kolom. Jika nilai k' lebih besar, maka pemisahan baik tetapi waktu yang dibutuhkan untuk analisis lebih lama dan puncaknya melebar. Sehingga ditentukan nilai k' optimum antara 1 – 10. Dari hasil pengukuran diperoleh nilai k' sebesar 1,0692 yang memenuhi syarat uji kesesuaian sistem.

Penentuan sistem presisi dilakukan setelah larutan baku diinjeksikan beberapa kali sehingga diperoleh % *RSD* dari respon puncak yang dapat diukur baik sebagai tinggi puncak atau luas area puncak. Dari hasil pengukuran 6 kali penginjeksian larutan baku diperoleh % *RSD* sebesar 0,23% yang memenuhi persyaratan uji kesesuaian sistem yaitu $\leq 2\%$ sehingga dinyatakan presisi.

Resolusi (R_s) adalah perbandingan antara jarak 2 puncak pada tinggi maksimal dengan rata-rata lebar dasar kedua puncak. Pada saat nilai $R_s = 1$ menunjukkan bahwa pemisahan masing-masing puncak telah mencapai pemisahan *base line* nilai $R_s = 1,5$. Nilai R_s yang semakin besar menunjukkan pemisahan yang lebih baik dan nilai R_s yang lebih kecil menunjukkan pemisahan yang lebih jelek. Tumpang tindih antara 2 puncak pada suatu nilai R_s akan menjadi sangat berpengaruh pada saat salah satu dari kedua puncak tersebut jauh lebih kecil daripada yang lainnya. Nilai rata-rata R_s dari hasil pengukuran sebesar 1,5657 menunjukkan terjadi pemisahan yang baik karena mendekati 1,5.

Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Dari larutan baku metil prednisolon 2,4,6,8,10,12 bpj (b/v) disaring dengan membran filter 0,45 μm kemudian masing-masing larutan baku tersebut diinjeksikan ke dalam alat KCKT sehingga diperoleh luas area. Setelah pengukuran diperoleh data luas area standar metil prednisolon pada Tabel 4.

Tabel 4. Luas area deret standar metil prednisolon

Konsentrasi (ppm)	Luas area
2	4539435
4	5023364
6	5593332
8	6266638
10	6608890
12	7101577

Dari data diatas, kemudian dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan luas area. Kurva kalibrasi larutan standar metil prednisolon dapat dilihat sebagaimana dalam Gambar 3.

Gambar 3. Kurva kalibrasi larutan standar metil prednisolon

Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier $y = 260580x + 4031480$ dan nilai koefisien relasinya (r) = 0,9969. Nilai koefisien relasi (r) yang diperoleh mendekati 1 sehingga kurva kalibrasi yang dihasilkan baik karena hubungan antara luas area (y) dengan konsentrasi (x) linier.

Penentuan Nilai Batas Limit Deteksi (LoD) dan Batas Limit Kuantitasi (LoQ)

Uji batas deteksi dan batas kuantitasi dilakukan untuk mengetahui batas deteksi dan kuantitasi terendah dari sampel yang masih dapat menghasilkan data dengan akurasi dan presisi yang baik

(Harmita, 2004). Batas deteksi yang diperoleh dari hasil pengujian sebesar $0,9873 \mu\text{g/ml}$ dan batas kuantitasi $3,2909 \mu\text{g/ml}$.

Penentuan Uji Selektivitas

Uji selektivitas dilakukan dengan penyuntikan 6 kali standar metil prednisolon dengan konsentrasi 10 bpj (b/v) dan 6 kali larutan sampel dengan konsentrasi 10 bpj. Syarat untuk uji selektivitas adalah jika hasil kromatogram larutan standar metil prednisolon memiliki waktu retensi yang hampir sama dengan larutan sampel. Dari hasil pengujian selektivitas diperoleh hasil sebagaimana pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengujian rata-rata selektivitas

Larutan Uji	Rata-rata waktu Retensi
Standar	1,6086
Sampel	1,6020

Dari hasil tersebut maka metode ini dinyatakan selektif terhadap senyawa yang ditetapkan kadarnya. Uji ini dilakukan untuk memperoleh kepastian tidak terjadinya gangguan oleh senyawa lain yang terdapat pada sampel metil prednisolon sehingga memberikan hasil pengukuran yang terbebas dari pengaruh matriks.

Penentuan Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan pada 3 konsentrasi sampel yaitu $8 \mu\text{l/ml}$ (80%), $10 \mu\text{l/ml}$ (100%), dan $12 \mu\text{l/ml}$ (120%). Kemudian dihitung pula nilai perolehan kembali (% *recovery*). Hasil perhitungan pengujian rata-rata akurasi diperoleh range perolehan kembali (%*recovery*) antara 100,38% – 101,17% sebagaimana terlihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil pengujian rata-rata akurasi

konstraksi (%)	bobot rata-rata (mg)	% perolehan kembali
80	100,43	100,93
100	125,53	100,61
120	150,43	100,84

Penentuan Uji Presisi

Uji presisi dilakukan pada 6 kali penimbangan sampel dengan konsentrasi 10 bpj (b/v). Pengujian dilakukan *intra day* yaitu dalam 1 hari dan *inter day* (selama 3 hari berturut-turut). Syarat hasil uji presisi adalah simpangan baku relatif (% *RSD*) ≤ 2 (Harmita, 2004). Hasil uji rata-rata presisi *intra day* dan *inter day* diperoleh % *RSD* sebesar 0,12%. Hasil ini memenuhi syarat yaitu ≤ 2 sehingga hasil analisis dinyatakan presisi.

Penetapan Kadar Metil Prednisolon dalam Sampel Sediaan *Dry Injection*

Dari hasil penetapan kadar metil prednisolon dalam sediaan *dry injection* diperoleh hasil sebagaimana pada Tabel 7.

Tabel 7. Kadar metil prednisolon dalam sediaan *dry injection*

Berat sampel (mg)	Kadar metil prednisolon (%)
125,5	100,13
125,3	100,14
125,8	100,27
125,0	100,05
125,7	100,09
125,6	100,01

KESIMPULAN

Optimasi metode analisis metil prednisolon diperoleh hasil bahwa metil prednisolon pada sediaan *dry injection* dapat dianalisis menggunakan kolom *Phenomenex* C18 dengan kondisi optimum fase gerak asetonitril : metanol (45:55) dengan laju alir 1,0 ml/menit pada panjang gelombang 243 nm. Pengembangan metode analisis baru ini dinyatakan valid dengan dipenuhinya syarat-syarat pada validasi metode. Bila akan dilakukan pengujian lebih lanjut, disarankan untuk lebih memastikan validitas metode baru dengan pengujian ulang menggunakan material standar pembanding tersertifikasi (SRM) fluorometolon untuk mengetahui kadar metil prednisolon ester (17-metil prednisolon hemisuksinat) dan metil prednisolon bebas sehingga dapat dihitung kadar metil prednisolon *on the dried basis* (ODB).

DAFTAR PUSTAKA

- Ditjen POM. 2014. Farmakope Indonesia Edisi V. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Metode dan Cara Perhitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. I No.3 Halaman : 117-135.
- Johnson, E.L dan Stevenson, R. 1991. Dasar Kromatografi Cair. Penerjemah : Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB Press.
- Katzung, B.G. 1998. Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi VI. Jakarta : EGC.
- Kwon, Younggil. 2002. *Handbook of Essential Pharmacokinetics Pharmacodynamics and Drug Metabolism*. New York : Kluwer Academic Publishers
- Majors., R.E., 2003. The Cleaning and Regeneration of Reversed-Phase HPLC Columns. Column Watch. Agilent Technology: USA.